Über pharmazeutisch gebräuchliche Farbreaktionen im alkalischen Milieu

Dissertation

Dissertation
zur
Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
dem Fachbereich Pharmazie
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Brigitte Marschall
aus Mettenberg
Krs. Waldshut

1978

Über pharmazeutisch gebräuchliche Farbreaktionen im alkalischen Milieu

Dissertation

Dissertation
zur
Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften
dem Fachbereich Pharmazie
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Brigitte Marschall
aus Mettenberg
Krs. Waldshut

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Mai 1978

Dekan: Professor Dr. H. Auterhoff

1. Berichterstatter: Professor Dr. H. Auterhoff
2. Berichterstatter: Professor Dr. K.-A. Kovar

Die vorliegende Arbeit wurde im April 1975 unter Anleitung von Herrn Professor Dr. H. Auterhoff am Pharmazeutischen Institut der Universität Tübingen begonnen und im Februar 1978 abgeschlossen.

Meinem verehrten Lehrer,
Herrn Professor Dr. H. Auterhoff,
danke ich für die Ermöglichung meiner Promotion,
für die Anregungen und die freundliche Unterstützung
bei dieser Arbeit.

Für A.
in Freundschaft und Dankbarkeit

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

I. E i n l e i t u n g 1

Reaktion im sauren Milieu 1

Reaktion im alkalischen Milieu 4

II. Reaktion des Vanillins und des Salicylaldehyds mit Aceton im alkalischen Milieu 9

1. Untersuchung der Farblösung 12

1.1. Untersuchung des isolierten Rohproduktes .. 15

1.2. Zusammenhang zwischen Farbintensität und Vanillinkonzentration 22

2. Vergleichende Untersuchung des isolierten Farbstoffs mit Divanillalaceton(DVA) 23

3. Untersuchung der weiteren Reaktionsprodukte 27

4. Vergleichende Untersuchung von Disalicylal-aceton(DSA) und seinem Natriumsalz 30

5. Zusammenfassung 41

III. Reaktion des 2-Naphthylbenzoats (Benzonaphthol) und anderer 2-Naphthylester mit Aceton und Lauge 44

1. Möglicher Reaktionsmechanismus nach ROMAIN 46

2. Untersuchung der Farblösung mit 2-Naphthylbenzoat 47

2.1. Untersuchung auf paramagnetische Eigenschaften 49

3. Chromatographische Untersuchung der Farblösung mit 2-Naphthylbenzoat 58

4. Zusammenfassung 64

IV. Reaktion des Bisacodyls mit Natriumhydrid 66

1. Untersuchung der Farblösung nach Umsetzung mit Natriumhydrid 68

2. Untersuchung des Dimethyläthers (Bis 2) des Bis(4-hydroxyphenyl)-pyridylmethans 71

3. Reaktion des Bisacodyls mit Kaliumhexacyano-ferrat(III) im Alkalischen 73

4. Zusammenfassung 76

V. Z u s a m m e n f a s s u n g 79

VI. B e s c h r e i b u n g d e r V e r s u c h e 81

I. Einleitung

Bei der Analytik von Arzneimitteln, speziell der Identifizierung nach amtlichen Arzneibuchvorschriften, bedient man sich auch heute noch häufig der Farbreaktionen, welche möglichst spezifisch für eine Verbindung oder Stoffklasse sein sollen.

Stellt man eine Übersicht über die gebräuchlichen Farbreaktionen zusammen, so kann die Einteilung nach verschiedenen Gesichtspunkten vorgenommen werden. Als eine Möglichkeit bietet sich die Einteilung in Gruppen nach der chemischen Natur der farbgebenden Komponenten an. Hierbei wird nicht berücksichtigt, unter welchen Bedingungen die Reaktion durchgeführt wird. Für die Praxis sinnvoller erscheint es deshalb, Farbreaktionen nach dem Medium, in dem sie ablaufen, zu gliedern. Es ergeben sich dann zwei Hauptgruppen, zum einen Reaktionen im sauren, zum anderen Reaktionen im alkalischen Medium, die im folgenden kurz zusammengestellt sind.

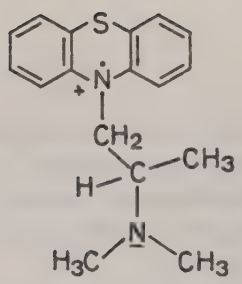
Reaktionen im sauren Milieu

Gebräuchliche Reagenzien sind Mineralsäuren, vor allem Schwefelsäure, die bei vielen Substanzen ohne ein weiteres Reagens bereits eine Färbung erzeugt. Oft erfolgt Farbbildung aber erst, wenn weitere Reagenzien zugesetzt werden; dies können anorganische Salze wie $K_3[Fe(CN)_6]$, $K_2Cr_2O_7$ u.a. oder organische Verbindungen wie 4-Dimethylaminobenzaldehyd, Phenole u.a. sein. Je nach Art der Ausgangssubstanz können ganz verschiedene Farbprodukte entstehen.

Läßt man beispielsweise auf ein Phenothiazin konzentrierte Schwefelsäure einwirken, so entsteht oxidativ ein Radikal, dessen Farbintensität sehr groß ist[1].

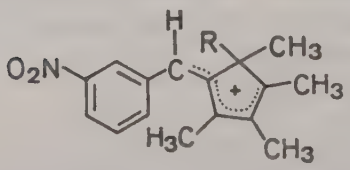
---

1) J. Kühn, Dissertation Tübingen, 1972



Promethazin-
Radikalkation

Begünstigt wird auch die Bildung von Carbeniumkationen, die durch Abspaltung einer geeigneten Atomgruppe wie -OH entstehen können. Ihre Beständigkeit hängt von der Möglichkeit einer Mesomeriestabilisierung ab. Ein solcher Vorgang findet beim Nachweis von Isopropanol mit 3-Nitrobenzaldehyd in schwefelsaurer Lösung statt[2]. Die Schwefelsäure wirkt hier also dehydratisierend und protonierend.

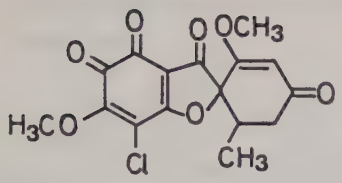


Carbeniumkation
aus Isopropanol und
3-Nitrobenzaldehyd

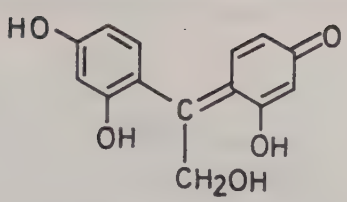
Weiterhin können Chinone und chinoide Verbindungen als Oxidationsprodukte aromatischer Stoffe auftreten. Die Umsetzung von Griseofulvin mit Kaliumdichromat und Schwefelsäure nach Ph. Eur. ergibt ein labiles Orthochinon[3]. Eine parachinoide Verbindung entsteht dagegen bei der MOHLER-Reaktion des DAB 7, welche zum Nachweis von Weinsäure mit Hilfe von Resorcin und Schwefelsäure dient.

---

2) C.J. Lang, Dissertation Tübingen, 1971
3) H. Auterhoff u. M. Kliem, Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.) 309, 326 (1976)

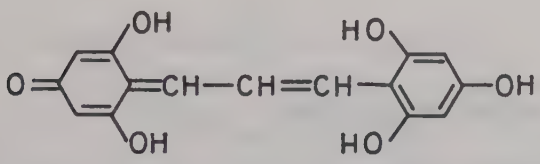


o-Chinon
aus Griseofulvin



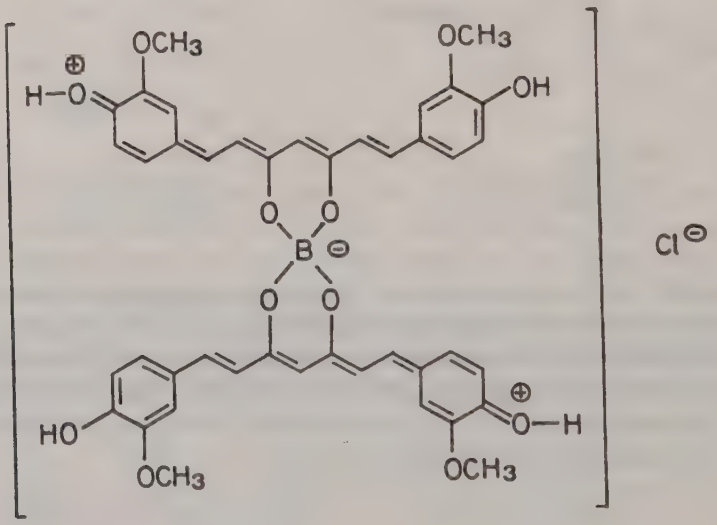
p-Chinoide
Verbindung aus
Resorcin und
Weinsäure

Relativ häufig entstehen auch Polymethinfarbstoffe, so beispielsweise bei der KREIS-Reaktion, die bei Fetten zur Prüfung auf Verdorbenheit durchgeführt wird. Der beim Ranzigwerden des Fettes gebildete Malondialdehyd kondensiert in salzsaurem Milieu mit Phloroglucin zu einem gefärbten phenolbegrenzten Polymethinderivat.



Polymethinfarbstoff aus Malondialdehyd und
Phloroglucin

Seltener tritt Komplexbildung auf. Ein Komplex entsteht z.B. beim Nachweis von Borsäure mit Curcumin nach dem DAB 7.

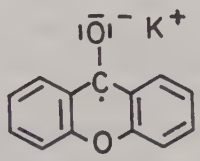


Komplex aus Borsäure und Curcumin

Reaktionen im alkalischen Milieu

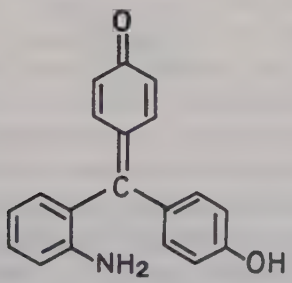
Als alkalisierende Reagenzien finden nicht nur anorganische Basen wie NaOH und KOH sondern auch viele stickstoffhaltige organische Verbindungen Anwendung. Mit Lauge allein wird bei der BORNTRÄGER-Reaktion eine Färbung erreicht. Dihydroxyanthrachinone geben hier mesomeriestabilisierte Phenolatanionen. Bei den meisten Umsetzungen ist jedoch wiederum die Zugabe eines weiteren Reagenzes anorganischer oder organischer Natur erforderlich. Es können sich - wenn auch im allgemeinen erschwert - ähnliche Produkte wie bei den Reaktionen im sauren Milieu bilden.

So entsteht beim Nachweis von DDT mit Xanthydrol und KOH in Pyridin primär ein blaues Metallketyl radikalischen Charakters[4].



Metallketyl aus Xanthydrol

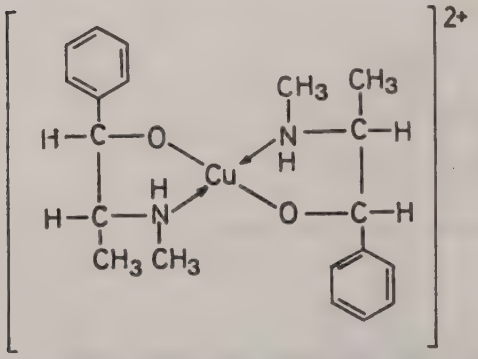
Auch die Bildung von Chinonen ist möglich. Das DAB 7/DDR läßt Oxyphenisatin mit $K_3[Fe(CN)_6]$ in alkalischer Lösung nachweisen, wobei eine violette p-chinoide Verbindung entsteht[5].



p-Chinoide Verbindung aus Oxyphenisatin

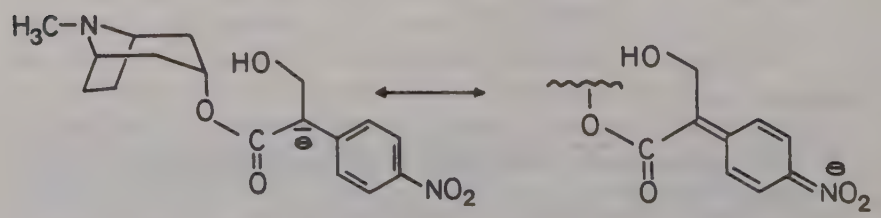
4) H. Auterhoff und G. Ahlers, Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.) 306, 631 (1973)
5) R. Lang, Dissertation Tübingen 1973

Bei Reaktionen mit Metallsalzen bilden sich auch Komplexe, so bei der CHEN-KAO-Reaktion auf Äthanolamine.



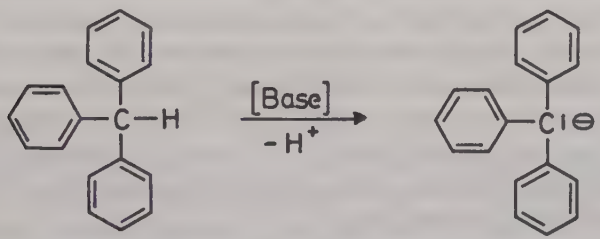
Cupratkomplex

Ein grundlegender Unterschied des Reaktionsverlaufes im alkalischen Milieu zu Reaktionen im Sauren besteht in der Möglichkeit der Bildung von Carbanionen. Pharmazeutisch gebräuchliche Reaktionen, deren Farbigkeit auf ein Carbanion zurückzuführen ist, sind seltener und die erforderlichen Reaktionsbedingungen schärfer. Bekannt ist die VITALI-MORIN-Reaktion in der Interpretation nach SCHWENKER[6]. Atropin, Hyoscyamin und andere Ester der Tropa- und Truxillsäure ergeben mit rauchender Salpetersäure und anschließender Zugabe von Aceton und alkoholischer Kalilauge eine Violettfärbung. Diese führt SCHWENKER auf ein mesomeriestabilisiertes Carbanion zurück.

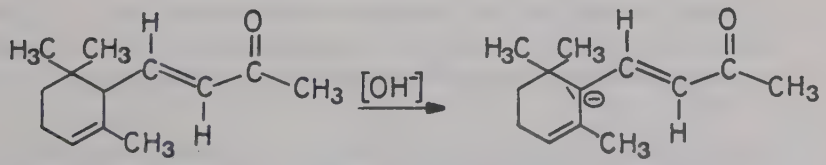


6) G. Schwenker, Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.) 299, 131 (1966)

Weitere farbige Carbanionen, deren Existenz durch spektroskopische Methoden wie UV, IR und vor allem NMR bewiesen wurden, entstehen bei der Umsetzung von Diphenyl- und Triphenylmethan sowie deren Derivate mit starken Basen. Diese Stoffklasse weist schwach saure Eigenschaften auf, die pK-Werte liegen zwischen 30 und 34. Spaltet man mittels einer Base ein Wasserstoffatom am sekundären bzw. tertiären Kohlenstoffatom als Proton ab, so bleibt ein Carbanion zurück, dessen Farbe je nach Anzahl der Phenylreste von orange bis rotviolett reicht. Es werden aber recht extreme Reaktionsbedingungen benötigt, teilweise sind tiefe Temperaturen und Arbeiten unter einem Schutzgas wie Argon[7] erforderlich, letzteres, um Feuchtigkeit absolut auszuschließen. Zudem sind die eingesetzten Basen wie Kaliumamid oder Cäsiumcyclohexylamid schwierig zu handhaben.



Auch aus α-Jonon und 5-Oxo-α-jonon sollen nach KARRER und BLASS[8] farbige Carbanionen nach Umsetzung mit 20 %iger Natronlauge entstehen. Allerdings wurden außer UV-Spektren keine weiteren Nachweise geführt, und die Carbanionenbildung ist hier wenig wahrscheinlich.



7) A. Streitwieser und G. Häfelinger, Chem. Ber. 101, 675 (1968)
8) P. Karrer und U. Blass, Helv. Chim. Acta 36, 463 (1953)

Bei zahlenmäßigem Vergleich beider Reaktionsgruppen stellt man fest, daß die Anzahl der pharmazeutisch gebräuchlichen Farbreaktionen im sauren Milieu die der Reaktionen im alkalischen Milieu erheblich überwiegt. Aufgabe dieser Arbeit war es, ausschließlich Reaktionen zu untersuchen, die im Alkalischen zu einer Färbung führen. Umsetzungen von Substanzen mit Salpetersäure und anschließender Alkalizugabe, bei denen Meisenheimer- und Zimmermann-Komplexe entstehen, werden hier aber nicht behandelt.

In den neueren Ausgaben der Pharmakopöen treten die Farbreaktionen als Mittel zur Identifizierung zugunsten spektroskopischer Methoden z.T. in den Hintergrund. Dies trifft besonders für die Arzneibücher der USA und Großbritanniens zu. Diesem Trend folgt zum Teil aber auch die Pharmacopoea Europaea. So werden etwa 10 % aller Identifizierungsreaktionen mit Hilfe spektroskopischer Methoden durchgeführt (IR, UV); den Hauptteil mit 30 % bilden aber Farbreaktionen. Gerade aus der pharmazeutischen Praxis sind die Farbreaktionen wegen der Einfachheit und Schnelligkeit der Durchführung sowie ihrer relativ großen Spezifität nicht wegzudenken. Rationell ist ihr Einsatz aber erst, wenn der entsprechende Reaktionsmechanismus bekannt ist.

Als Beispiele wurden die Reaktionen des Vanillins und anderer aromatischer Aldehyde, des 2-Naphthylbenzoats und anderer Ester sowie des Bisacodyls untersucht.

II. Die Reaktion des Vanillins und des Salicylaldehyds mit Aceton im Alkalischen

Vanillin, 3-Methoxy-4-hydroxy-benzaldehyd, wird in der pharmazeutischen Industrie nicht als Arzneimittel, wohl aber als Geschmackskorrigens und als Duftstoff verwendet. Weiterhin stellt es eine wichtige Ausgangssubstanz für Synthesen vieler Arzneistoffe, z.B. Papaverin, dar.

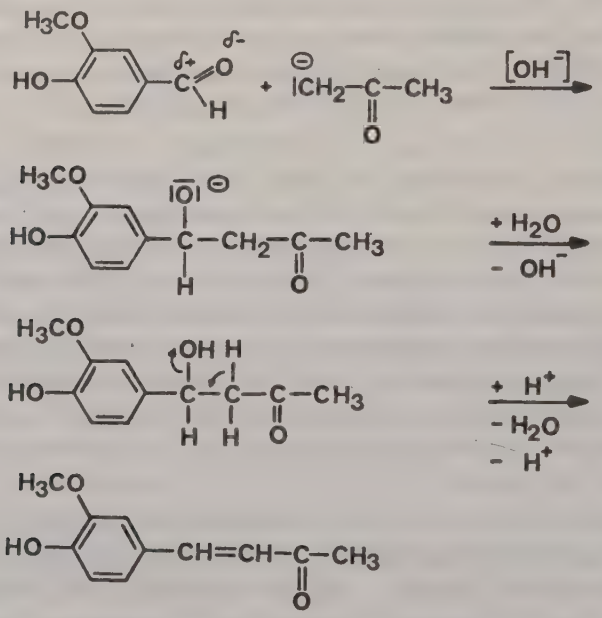
Die phenolische OH-Gruppe und der Methoxyrest erhöhen als Substituenten 1. Ordnung die Elektronendichte des aromatischen Ringes, so daß Vanillin eine größere Reaktivität zeigt als Benzaldehyd. Zusätzlich weist es eine höhere Acidität als Phenol auf (der pK_s-Wert beträgt 7,4 im Vergleich zu 10,0 des Phenols), da es eine phenyloge Carbonsäure ist[9]. Diese Eigenschaften machen Vanillin zu einem beliebten Reagens für Substanzen verschiedenster Struktur. So läßt Ph. Eur. Isoniazid mit Vanillin gravimetrisch nachweisen; das DAB 7 verwendete es zu einer Identitätsreaktion für Diäthylstilböstrol und -propionat[10].

Als Aldehyd ist Vanillin zu vielen Reaktionen befähigt, als Beispiel sei die Kondensation mit Aminoverbindungen oder CH-aciden Stoffen erwähnt. Von den letztgenannten reagieren besonders glatt Ketone mit aktiven Methylengruppen, aliphatische besser als aromatische. Ein gut geeignetes Keton stellt das Aceton dar, das als einfachstes Keton gleich zwei solcher aktiver Methylengruppen besitzt. In einer Aldolreaktion setzt sich unter Katalyse von Alkalihydroxiden der Aldehyd mit dem Keton um, wobei das Keton stets die Methylenkomponente darstellt[11] (CLAISEN-SCHMIDT-Reaktion). Da es sich um einen aromatischen Aldehyd handelt, erfolgt eine Dehydratisierung, weil ein ausgedehntes konjugiertes System entstehen kann.

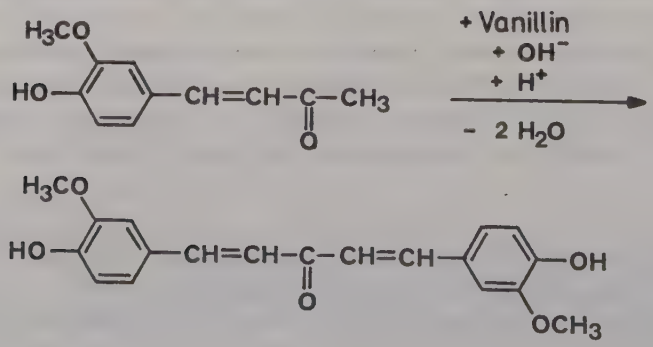
---

9) Kommentar zum DAB 7, Dtsch. Apothekerverlag Stuttgart und Govi-Verlag Frankfurt 1968, S. 1480
10) H.-J. Riethmüller, Dissertation Tübingen 1971
11) Organikum, 9. Auflage, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin 1969, S. 501

Vanillin kann mit Aceton zwei Produkte bilden, Vanillalaceton (Molverhältnis 1:1) und Divanillalaceton (Molverhältnis 2:1). Die Reaktion läuft nach folgendem Mechanismus ab:



Die zweite aktive Methylengruppe des Acetons kann ebenfalls nach diesem Mechanismus reagieren:



In sehr stark alkalischer oder stark mineralsaurer Lösung reagiert Vanillin mit Aceton unter Bildung einer dunkelroten Farbe. Diese Reaktion wurde von NIKITIN[12] untersucht, jedoch nur in Bezug auf die Reaktionsgeschwindigkeit des Vanillins im Vergleich zu anderen Aldehyden wie Furfural oder Salicylaldehyd[13]. Die Reaktion kann auch zur photometrischen Bestimmung von Aceton herangezogen werden[14].

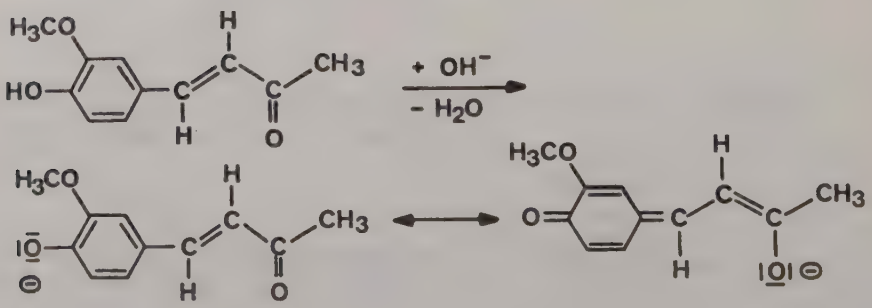
12) J.K. Nikitin und S.A. Werschinski, Chem. Zentralbl. 37 II, 2976 (193)
13) J.K. Nikitin, Chem. Zentralbl. 38 I, 560 (1938)
14) F. Bahner und G. Schulze, Z.Klin.Chem. 3, 10-14 (1965)

1. Untersuchung der Farblösung

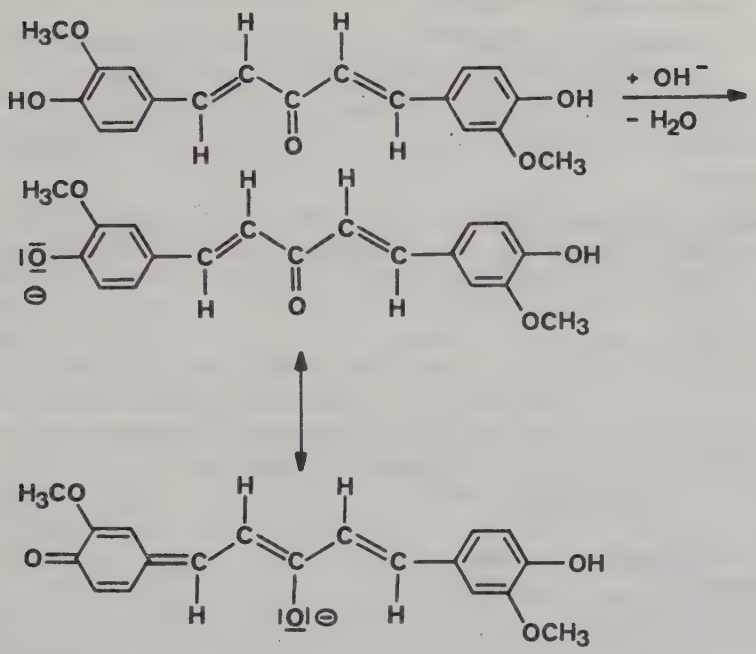
Nach NIKITIN[12] werden 5 ml einer äthanolischen 0,12 M-Vanillinlösung mit 5 ml einer äquimolaren wäßrigen Acetonlösung gemischt. Dazu gibt man 5 ml einer 60 %igen Kalilauge. Bereits bei Raumtemperatur tritt eine anfangs zitronengelbe Färbung auf, die rasch in dunkelgelb-orange-gelbrot übergeht. Nach Erwärmen auf dem Wasserbad zeigt die Lösung eine dunkelrote Farbe.

Eine Möglichkeit der Farbbildung liegt in der Umsetzung der Kondensationsprodukte in Gegenwart überschüssiger Lauge. Das substituierte Phenol geht als Phenolat in Lösung. Wird aus der Ketogruppe der Seitenkette ein Enolat, so entsteht aus dem benzoiden System ein chinoides, was eine Farbänderung und -vertiefung bedingt. Auf diese Weise können Mono- und Disubstitutionsprodukt reagieren:

Vanillalaceton



Divanillalaceton



Die Enolate leiten sich vom Grundkörper Chinomethan ab[15].

Chinomethan

Die Reaktivität des unsubstituierten Chinomethans ist so groß, daß es unter Normalbedingungen nicht isoliert werden kann[16]. Ersetzt man die beiden Wasserstoffatome der Methylengruppe durch geeignete Reste wie beispielsweise zwei Phenylreste, so erhält man stabile Produkte vom Typ des Fuchsons.

---

15) A. Bistrzycki und C. Herbst, Ber.Dtsch.Chem.Ges. 36, 2336-7 (1903)

16) The chemistry of the quinoid compounds 2, Edit. by S. Patai, John Wiley & Sons, London, N.Y. Sidney, Toronto, 1. Auflage 1974, S. 1149

Den gleichen Stabilisierungseffekt müßte auch eine längere olefinische Seitenkette bewirken, die Enolate sollten sich also isolieren lassen.

Die Farbvertiefung rührt einmal von der Ausbildung einer chinoiden Teilstruktur im Molekül her; zum anderen ergibt sich durch Elektronenverschiebung ein durchkonjugiertes π-Elektronensystem, was eine Verlängerung des Chromophors bewirkt.

Beide Ausgangsprodukte sind gelb, die Enolate müssen also rot oder zumindest gelborange gefärbt sein, da die Enolatbildung einen bathochromen Effekt bewirkt.

Das Elektronenspektrum der roten Lösung zeigt ein Absorptionsmaximum bei 495 nm; die Kurve steigt nach einem Minimum bei 450 nm rasch an, was auf nicht umgesetzte Ausgangssubstanz schließen läßt, die im UV-Bereich absorbiert.

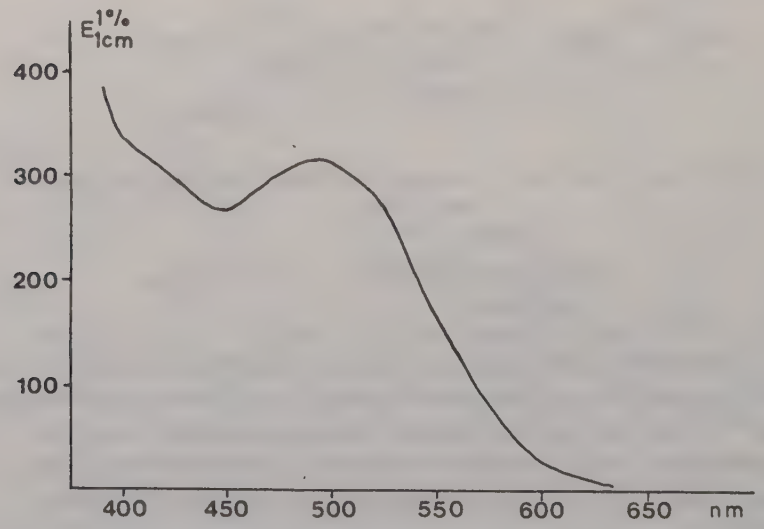


Abb. 1: Elektronenspektrum der Farblösung

1.1. Untersuchung des isolierten Rohproduktes

Nach dem Isolieren wurde der rote Farbstoff dünnschicht-chromatographisch untersucht. Um eine gute Trennung zu erzielen, war es am zweckmäßigsten, das Rohprodukt im Sauren zu chromatographieren. Trägt man das in Äthanol 90 % gelöste Rohprodukt auf, so wird die rote Lösung beim Auftreffen auf das Kieselgel sofort gelb.

Auf diese Weise konnte bereits mit Fließmittel geringerer Polarität eine gute Trennung erreicht werden. Die besten Trennergebnisse erzielte man mit einem Gemisch aus Benzol und Essigester 3 + 1 (Fließmittel I) auf Kieselgel F 254 "Merck". Als Detektionsmittel diente eine 10 %ige Natronlauge.

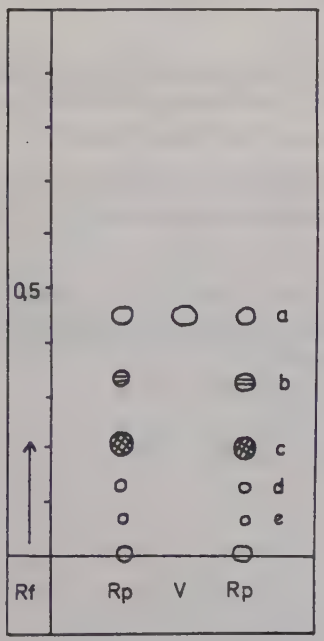


Abb. 2: Schematisches DC des Rohprodukts

Adsorbens: Kieselgel F 254
Fließmittel: Benzol+Essigester 3 + 1

Detektionsmittel: 10 %ige NaOH

R_f-Werte und Farbe der Flecke nach Detektion:

Fleck	a	0,44	farblos
"	b	0,31	gelb
"	c	0,19	rot
"	d	0,12	orange
"	e	0,06	rotviolett

Rp = Rohprodukt
V = Vanillin

Den größten R_f-Wert zeigt das Vanillin(a), das die polarste Komponente des Gemisches darstellt. Weniger weit läuft eine Substanz(b), die sich mit NaOH gelb färbt. In der Mitte liegt ein gelber Fleck(c), der mit NaOH dunkelrot wird, also vermutlich den eigentlichen Farbstoff darstellt. Zwischen ihm und einem schwachen bräunlichen Startfleck sind noch zwei kleine Flecke zu sehen, die sich mit NaOH schwach orange bzw. schwach rotviolett anfärben(d und e).

Die Reinigung des isolierten Produkts gestaltete sich schwierig, da die Einzelkomponenten sich zu wenig in Polarität und Löslichkeit unterscheiden. Schüttelt man die alkalische Farblösung mit Äther aus, so gelingt eine Abtrennung der Begleitstoffe, hauptsächlich des Vanillins, nur teilweise. Vanillin und -kondensationsprodukte gehen in alkalischem Medium als Phenolate in Lösung und verbleiben daher zum größten Teil in der Wasserphase.

Das Ausschütteln einer essigsauren Lösung mit Äther bringt ebenfalls keinen Vorteil, da infolge der verminderten Polarität alle Komponenten in der Ätherphase zu finden sind.

Das Rohprodukt wurde zweimal aus einem Aceton-Äthanol-Gemisch umkristallisiert. Nach der Elementaranalyse enthält die rote Substanz sechs Mol Kristallwasser.

Bei hoher Konzentration zeigte sich im DC noch eine schwache Verunreinigung durch Substanz b. Deshalb wurde das Farbprodukt säulenchromatographisch aufgetrennt.

Die nachfolgende Abbildung zeigt die Elektronenspektren des isolierten Farbstoffes in Wasser und in 0,1 N-NaOH.

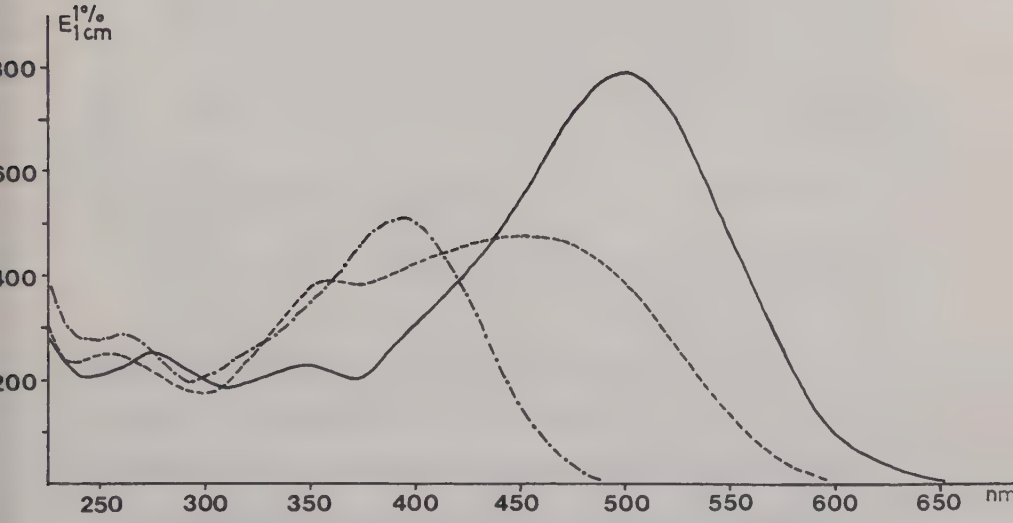


Abb. 3: Elektronenspektren des isolierten Farbstoffs

——— = Farbstoff in 0,1 N-NaOH (a)
------ = Farbstoff in Wasser (b)
-·-·-· = Neutralisierte Lösung von a

Das Absorptionsmaximum der alkalischen Lösung liegt bei 497 nm. Das Spektrum weist noch eine Schulter bei 350 nm und ein kleines Maximum bei 275 nm auf.

Die wäßrige Lösung, die nur orange, nicht dunkelrot ist, zeigt dagegen ein anderes Verhalten. Die Kurve verläuft bei wesentlich niedrigerer Extinktion im Sichtbaren flacher und zeigt ein Maximum bei 450 nm, eine Schulter bei 370 nm und ein kleines Maximum bei 260 nm. Auffällig ist auch der relativ steile Anstieg der Bande auf der längerwelligen Seite und der sehr flache Abfall bis zur Schulter auf der kürzerwelligen.

Die Verschiedenheit der beiden Spektren ist damit erklärt, daß nur im alkalischen Medium der Farbstoff vollständig in der Enolform vorliegt. In Wasser dagegen stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Keto- und Enolform ein; hierfür spricht auch die Mischfarbe Orange. Neutralisiert man die alkalische Farblösung a mit Essigsäure, so zeigt das Spektrum der gelben Lösung ein Maximum bei 393 nm. Kurve b nimmt hinsichtlich der Extinktion und der Lage des Maximums eine Mittelstellung ein.

Im IR-Spektrum zeigt sich die OH-Gruppe als breite Bande bei 3300 cm^{-1}. Bei 1660 cm^{-1} tritt eine Bande auf, die der Ketogruppe der chinoiden Teilstruktur des Moleküls zugeordnet werden kann, da solche α, β, α', β' ungesättigten Sechsringketone in diesem Bereich ein Signal geben[17]. Die enolisierte CO-Gruppe verursacht die Bande bei 1570 cm^{-1}. Die OH-Deformationsschwingung erscheint als Doppelbande bei 1300 cm^{-1} und 1320 cm^{-1}.

---

17) R. Jones, P. Humphries und K. Dobriner, J. Am. Chem. Soc. 72, 957 (1950)

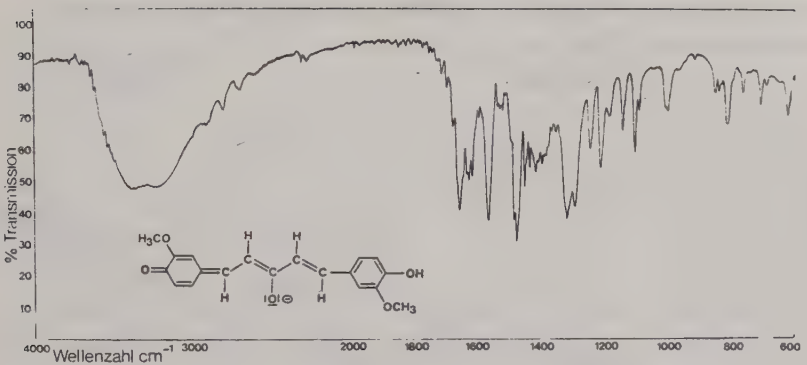


Abb. 4: IR-Spektrum des roten Farbstoffs

Auftrennung des Farbproduktes durch Säulenchromatographie

Mit Hilfe der Säulenchromatographie wurde Substanz c, der eigentliche Farbstoff isoliert. Eine bessere Trennung als Fließmittel I lieferte ein Gemisch aus Petroläther (30/50) und Chloroform 4 + 6 (Fließmittel II), welches vor allem das Vanillin vollständig abtrennte. Die konzentrierte methanolische Lösung des umkristallisierten Rohproduktes wurde mit Essigsäure versetzt und über eine Kieselgelsäule aufgetrennt. Die gelb gefärbte Fraktion wurde gesammelt und zur Aufnahme eines Massenspektrums verwendet.

Wie aus dem nachfolgenden schematisch dargestellten Massenspektrum zu ersehen ist, stellt der Peak bei m/e 326, der die größte relative Intensität aufweist, den Massenpeak dar. Damit ist sicher, daß es sich bei der gelben Substanz um Divanillalaceton handelt, welches die Rotfärbung im Alkalischen bedingt.

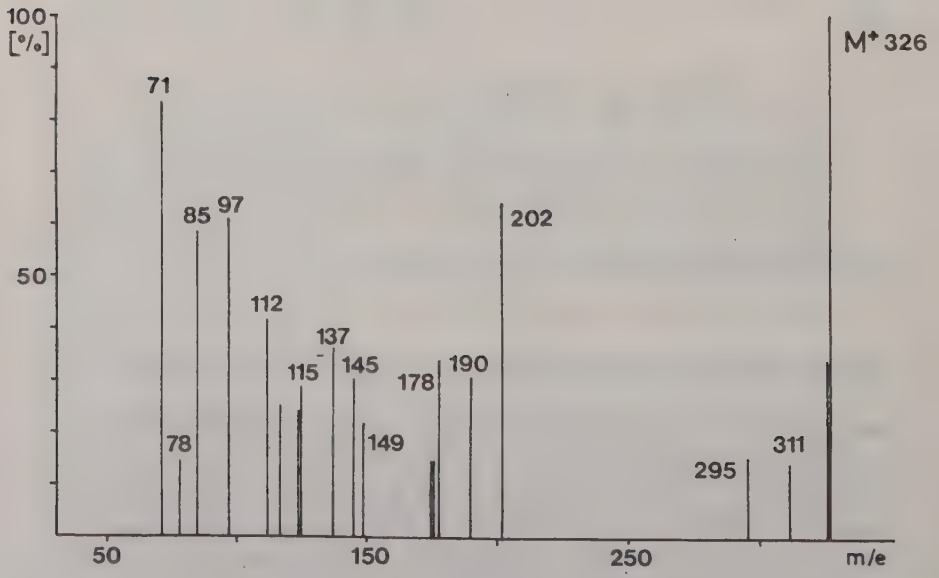
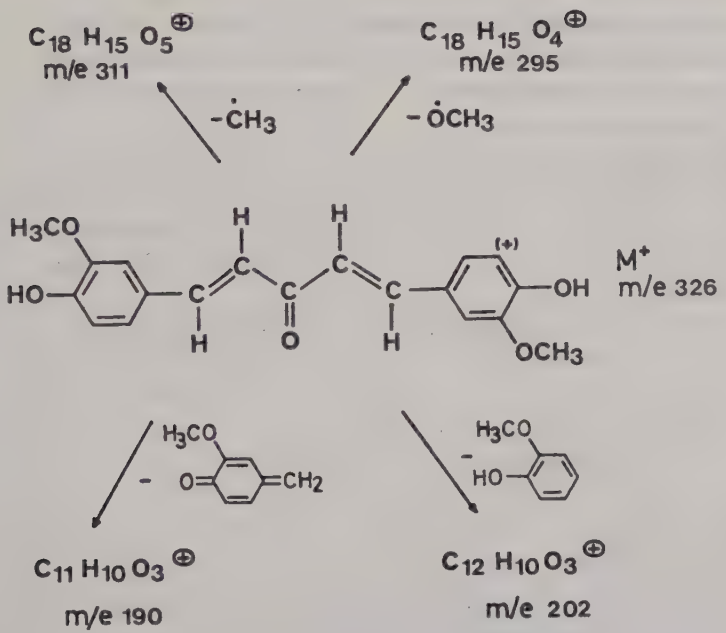


Abb. 5: Massenspektrum der gelben Substanz c
Probe: 125° C
Ionenquelle: 250° C, 70 eV, Direkteinlaß

Mögliches Zerfallsschema des Divanillalacetons:



1.2. Zusammenhang zwischen Farbintensität und Vanillinkonzentration

Im Verlauf der Untersuchung wurden auch die Reaktionsbedingungen geändert, um festzustellen, welcher Zusammenhang zwischen Farbintensität und Konzentration der Ausgangsstoffe besteht. Zunächst wurde bei der Stammlösung die Vanillinkonzentration um die Hälfte gesenkt. Die Rotfärbung trat erheblich später ein und war schwächer. Die dünnschichtchromatographische Untersuchung des Rohproduktes dieser Lösung ergab, daß der Anteil des nicht umgesetzten Vanillins fast genau so hoch wie im Rohprodukt der Stammlösung ist.
Lediglich eine Verringerung des Äthanolgehaltes der Vanillinlösung beschleunigte die Farbbildung des Rohproduktes.

2. Vergleichende Untersuchung des isolierten Farbstoffs mit Divanillalaceton (DVA)

Da das durch Säulenchromatographie isolierte gelbe Produkt mengenmäßig für weitere Untersuchungen nicht ausreichte und außerdem zu wenig stabil war, wurde nach einer Vorschrift von NOMURA und HOTTA[18] Divanillalaceton synthetisiert.

Es wurden folgende drei Substanzen dünnschichtchromatographisch verglichen, der isolierte rote Farbstoff, das gelbe Farbprodukt und Divanillalaceton. Auf Kieselgel F 254 wiesen alle drei Substanzen denselben R_f-Wert auf und zeigten beim Besprühen mit NaOH den Farbwechsel von gelb nach rot. Als Fließmittel diente wieder Fließmittel I (Benzol/Essigester).

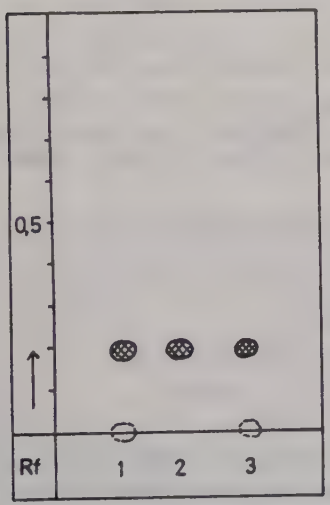


Abb. 6: Schematisches DC der drei Substanzen

Adsorbens: Kieselgel F 254
Fließmittel: Benzol/Essigester
3 + 1

Detektionsmittel: 10 %ige NaOH

1 = rotes Farbprodukt
2 = Divanillalaceton
3 = Isolierprodukt aus der Säule

18) H. Nomura und S. Hotta, Chem. Zentralbl. 96 II, 1745 (1925)

Verglichen wurden die Elektronenspektren des roten Farbproduktes und des Divanillalacetons, wobei einmal Methanol als Lösungsmittel und zum anderen eine wäßrige Natronlauge verwendet wurde.

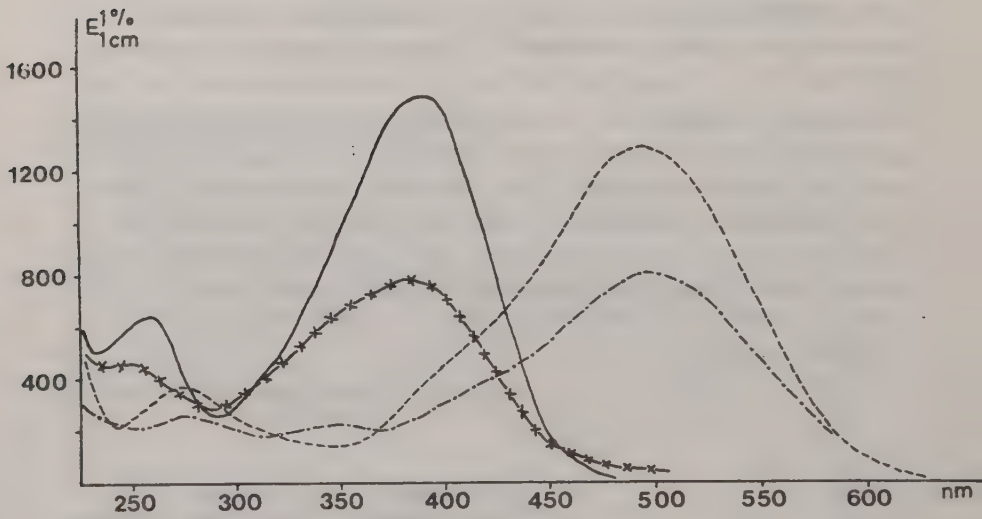


Abb. 7: Elektronenspektren des roten Farbstoffs und des Divanillalacetons (DVA)

——— = DVA in Methanol p.a.
----- = DVA in 0,1 N-NaOH
-x-x- = Roter Farbstoff in Methanol p.a.
-·-·- = Roter Farbstoff in 0,1 N-NaOH

Das Spektrum von DVA in Methanol zeigt ein Maximum bei 387 nm und ein kleines bei 258 nm. In alkalischen Medium löst es sich mit dunkelroter Farbe und zeigt ein ähnliches Verhalten wie der rote Farbstoff. Das Maximum liegt ebenfalls bei 497 nm, ein zweites kleineres bei 273 nm.

Löst man den roten Farbstoff in Methanol, so verschiebt sich das Maximum erheblich in den kürzerwelligen Bereich. Es liegt bei 383 nm, ein zweites kleines bei 250 nm. Die Extinktion beider Lösungen des roten Farbstoffs ist niedriger als bei den entsprechenden Lösungen des Divanillalacetons; dies kann daran liegen, daß der rote Farbstoff trotz aller Reinigungsschritte nie ganz frei von Nebenprodukten vorliegt.

Weiterhin wurden die IR-Spektren miteinander verglichen. Divanillalaceton zeigt eine scharfe Bande bei 3560 cm^{-1}, die von der OH-Gruppe herrührt, welche keine Wasserstoffbrücken ausbildet, da das Spektrum in Lösung aufgenommen wurde. Die Carbonylbande tritt bei 1590 cm^{-1} auf, die Verschiebung in den niedrigeren Wellenzahlenbereich wird durch Konjugation der Carbonylgruppe mit aliphatischen Doppelbindungen, die noch mit einem Aromaten verknüpft sind, hervorgerufen. Bei 1510 cm^{-1} erscheint ein starkes Signal für aromatische Ringe. Die Bande der OH-Deformationsschwingung liegt bei 1260 cm^{-1}, die der CO-Valenzschwingung bei 1100 cm^{-1}.

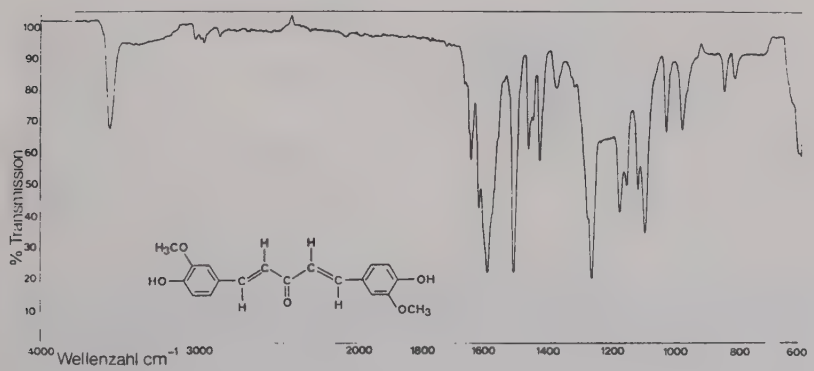


Abb. 8: IR-Spektrum des Divanillalacetons

Im Vergleich dazu ist beim IR-Spektrum des roten Produkts das Signal der Carbonylgruppe infolge der Enolisierung um 20 cm^{-1} nach 1570 cm^{-1} verschoben. Außerdem tritt eine neue Bande relativ großer Intensität bei 1660 cm^{-1} auf, welche der Ketogruppe des Chinomethanstrukturelementes zugeordnet werden kann (vgl. Kap. 1.1., S.18).

Weitere spektroskopische Untersuchungen konnten nicht durchgeführt werden, da der rote Farbstoff eine zu schlechte Löslichkeit in den dazu erforderlichen Lösungsmitteln aufweist.

3. Untersuchung der weiteren Reaktionsprodukte

Die weitere Untersuchung wurde auf die Identifizierung der Substanz b beschränkt. Vermutlich handelt es sich um das Monosubstitutionsprodukt, also Vanillalaceton. Zum Vergleich wurde deshalb die Verbindung synthetisiert[19].

Es wurden Rohprodukt und Vanillalaceton dünnschichtchromatographisch verglichen. Substanz b und Vergleichssubstanz wiesen denselben R_f-Wert auf und ergaben die gleiche gelbe Färbung beim Besprühen mit Natronlauge.

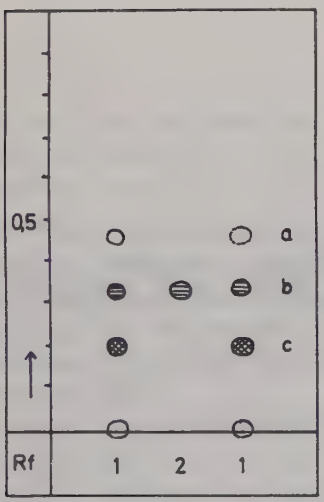


Abb. 9: Schematisches DC des Rohprodukts und Vanillalacetons

Adsorbens: Kieselgel F 254
Fließmittel: Benzol + Essigester 3 + 1
Detektionsmittel: NaOH 10 %

1 = Rohprodukt bestehend aus
Vanillin (a)
Substanz b
Divanillalaceton c
2 = Vanillalaceton

19) L. Francesconi und G. Cusmano, Gazz. Chim. Ital. 38 II, 75 (1908)

In Methanol gemessen zeigt Vanillalaceton im Elektronenspektrum ein Maximum bei 337 nm und ein kleineres bei 260 nm, das in eine flache Schulter abfällt.

Die kräftiggelbe Lösung der Substanz in 10 %iger Natronlauge weist ein intensives Absorptionsmaximum bei 397 nm auf, eine flache Schulter bei 313 nm und ein kleines Maximum bei 250 nm.

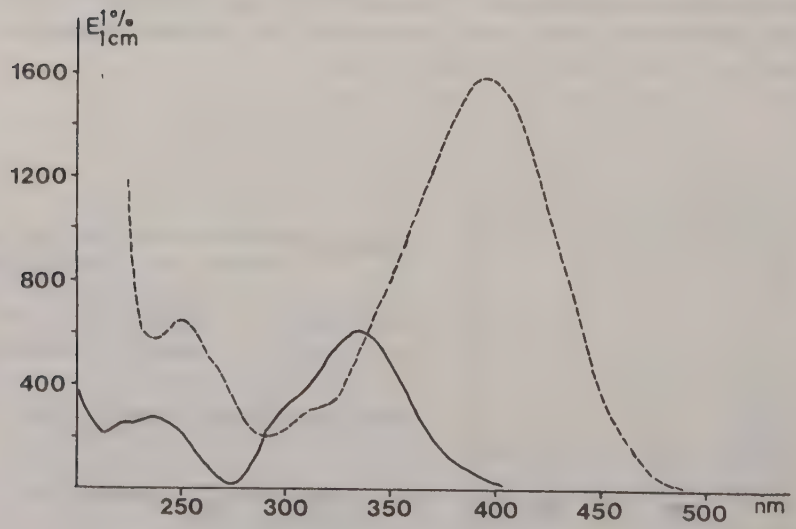
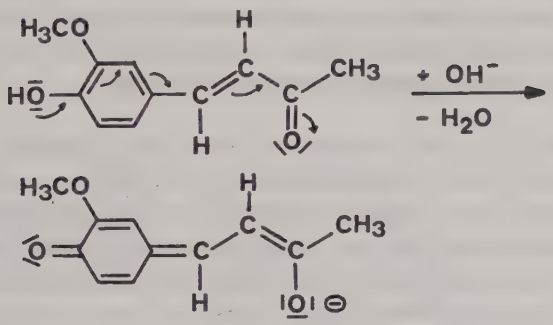


Abb. 10: Elektronenspektren des Vanillalacetons
----- = VA in NaOH 10 %
——— = VA in Methanol p.a.

Vanillalaceton kann mit Lauge unter Ausbildung folgender Struktur in Lösung gehen:



Das als eine der möglichen Grenzstrukturen formulierte chinoide System läßt eine Farbvertiefung erwarten, die bei der Länge des Chromophors nur ein kräftiges Gelb ist.

Eine Verschiebung der Farbe nach orange oder rot läßt sich nur erreichen, wenn man auf Vanillalaceton längere Zeit hochprozentige Lauge einwirken läßt. Unter diesen verschärften Bedingungen tritt dann teilweise Kondensation zu Divanillalaceton ein, welches für die rote Farbe verantwortlich ist[20].

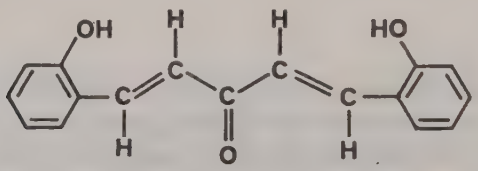
---

20) A. McGookin und D.J. Sinclair, J.chem.Soc. (London), 1926, 1581

4. Vergleichende Untersuchung von Disalicylalaceton(DSA) und seinem Natriumsalz

Da sich der rote Farbstoff aus Vanillin nicht in ausreichender Menge und vor allem nicht in genügend reiner Form isolieren ließ, wurde nach einer geeigneten Vergleichssubstanz gesucht, um weitere Untersuchungen durchzuführen und genauere Rückschlüsse auf die Struktur zu ziehen.

Hierzu bot sich das Natriumsalz des Disalicylalacetons an, das von FABINYI[21] synthetisiert wurde und als Seidenfarbstoff Verwendung fand. Das Salz fällt als fuchsinähnlich gefärbte, gut kristallisierende Substanz an, die nach zweimaligem Umkristallisieren bereits analysenrein ist. Aus der wäßrigen Lösung läßt sich durch Zusatz einer Säure das gelbe Disalicylalaceton ausfällen.



Disalicylalaceton(DSA)

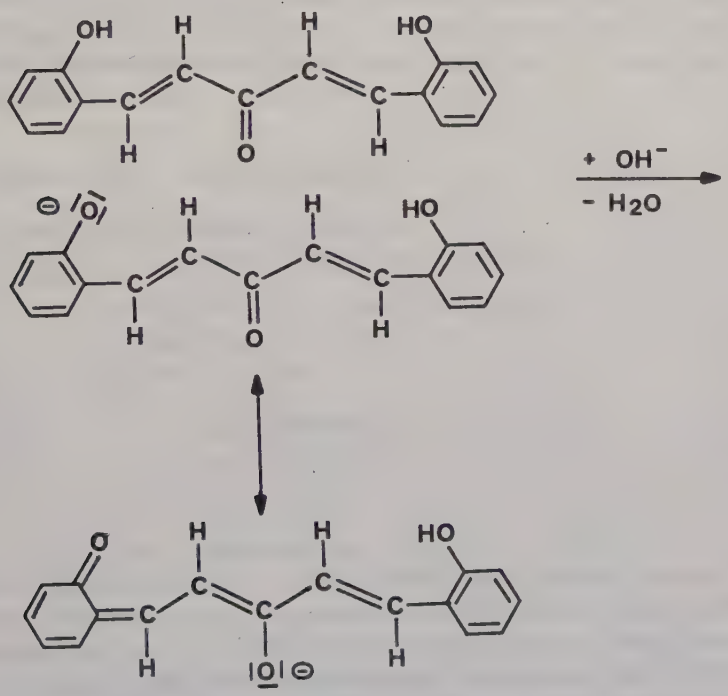
Als o-Aldehyd ist Salicylaldehyd reaktionsfreudiger als der p-Aldehyd Vanillin. Dies macht sich bei der Darstellung des Natriumsalzes bemerkbar, das bereits nach kurzer Zeit kristallin ausfällt.

Mit Disalicylalaceton und seinem Natriumsalz wurden die gleichen Untersuchungen wie bei Divanillalaceton und dessen rotem Farbstoff durchgeführt.

---

21) R. Fabinyi, Patentbl. 21, 764; DRP 110521,19/4; 48 ref. in Chem. Zentralbl. 71 II, 302 (1900)

Die Bildung des Kondensationsproduktes aus Aceton und Salicylaldehyd erfolgt analog dem bei der Reaktion mit Vanillin beschriebenen Mechanismus. Das Dikondensationsprodukt wird durch nochmalige Umsetzung mit einem Aldehydmolekül gebildet; es geht dann unter Ausbildung eines Phenolates bei Überschuß von Lauge unter Farbvertiefung in Lösung. Wiederum können Mesomere formuliert werden, die aber o-chinoiden Charakter aufweisen.



Da die Einzelkomponenten des Rohproduktes eine ähnliche Polarität aufweisen wie die des Rohproduktes der Reaktion mit Vanillin, wurde die dünnschichtchromatographische Trennung mit dem gleichen Fließmittel (Benzol/Essigester 3 + 1) versucht, welches auch ein gutes Ergebnis lieferte.

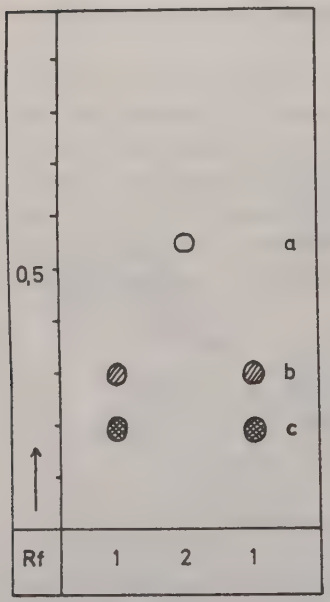


Abb. 11: Schematisches DC des Rohproduktes aus Salicylaldehyd und Aceton

Adsorbens: Kieselgel F 254
Fließmittel: Benzol + Essigester 3 + 1

Detektionsmittel: 10 %ige NaOH

R_f-Werte und Farbe der Flecke nach Detektion:

Fleck	a	0,55	farblos
"	b	0,30	gelb
"	c	0,20	rotorange

1 = Rohprodukt
2 = Salicylaldehyd

Das DC zeigt, daß im Gegensatz zum Rohprodukt aus Vanillin kein freier Aldehyd mehr vorhanden ist. Dies spricht für die größere Reaktivität des Salicylaldehyds. Jedoch bildet sich wiederum auch das Monosubstitutionsprodukt b, das sich beim Besprühen mit Natronlauge gelb anfärbt. Das Hauptprodukt Disalicylalaceton c wird bei der Detektion rotorange.

Aufgrund der besseren Löslichkeit und der Reinheit des Natriumsalzes des Disalicylalacetons konnten die spektroskopischen Untersuchungen vollständiger durchgeführt werden. Hierbei wurde das Natriumsalz in seinem Verhalten mit dem Disalicylalaceton verglichen.

Zuerst wurden Elektronenspektren des Natriumsalzes in Wasser und in 0,1 N-NaOH aufgenommen. Die Substanz verhält sich analog zu den Farbsalzlösungen des Vanillins; nur sind die Maxima beider Kurven in den kürzerwelligen Bereich verschoben. Die rote alkalische Lösung zeigt ein Maximum bei 467 nm und ein kleineres bei 325. Die gelbrote wäßrige Lösung weist zwei Maxima bei 450 nm und 333 nm auf, deren Extinktionshöhe fast gleich ist.

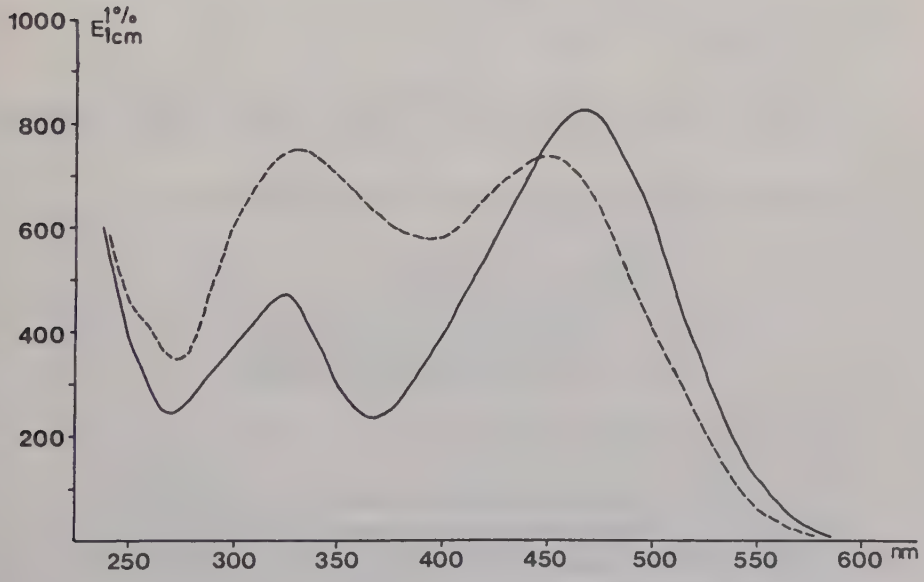


Abb. 12: Elektronenspektren des Natriumsalzes von Disalicylalaceton

——— = Substanz in 0,1 N-NaOH
------ = Substanz in Wasser

Weiterhin wurden die Elektronenspektren von Disalicylalaceton in Methanol und 0,1 N-NaOH aufgenommen und mit denen des Natriumsalzes verglichen.

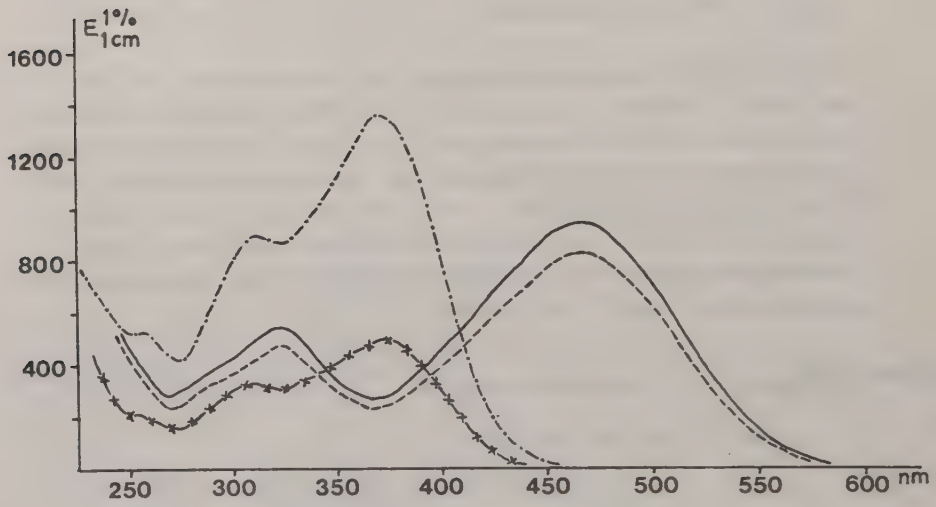


Abb. 13: Elektronenspektren von Disalicylalaceton und seinem Natriumsalz

——— = DSA in 0,1 N-NaOH
-·-·-· = DSA in Methanol p.a.
------ = Natriumsalz in 0,1 N-NaOH
-x-x-x = Natriumsalz in Methanol p.a.

Das Spektrum von DSA in Methanol zeigt ein Maximum bei 370 nm und ein kleines bei 310 nm. Nach einer flachen Schulter bei 255 nm steigt die Kurve rasch an.
Wählt man Natronlauge als Lösungsmittel, so weist die Kurve der orangeroten Lösung fast denselben Verlauf wie die alkalische Lösung des Natriumsalzes auf, nur ist die Extinktion insgesamt etwas höher. Die Maxima liegen wiederum

bei 467 nm und 325 nm. In Methanol vermessen, zeigt das Natriumsalz ein wesentlich anderes Verhalten als in Wasser. Die Farbe der Lösung verändert sich nach gelb, und der Verlauf der Kurve gleicht in etwa dem von DSA in Methanol. Das Hauptmaximum liegt bei 370 nm, eine Schulter bei 310 nm und ein kleines Maximum bei 257 nm. Die Extinktion beträgt dagegen nur noch ein Drittel.

Vergleicht man die IR-Spektren beider Substanzen, so fällt zuerst die Verschiebung der Carbonylbande auf. Liegt sie beim Disalicylalaceton bei 1600 cm^{-1}, so zeigt sie beim Natriumsalz eine Verschiebung um 30 cm^{-1} nach 1570 cm^{-1}. Der von anderen Ketonen abweichende niedrige Wert rührt wiederum von Konjugation der Carbonylgruppe mit olefinischen Seitenketten und aromatischen Ringen her.

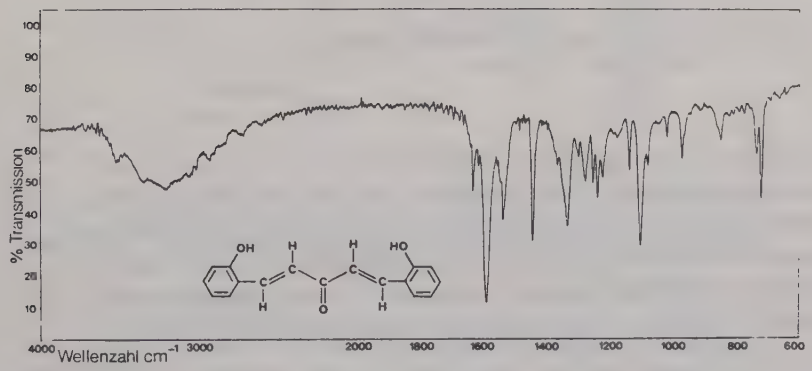


Abb. 14: IR-Spektrum des Disalicylalacetons

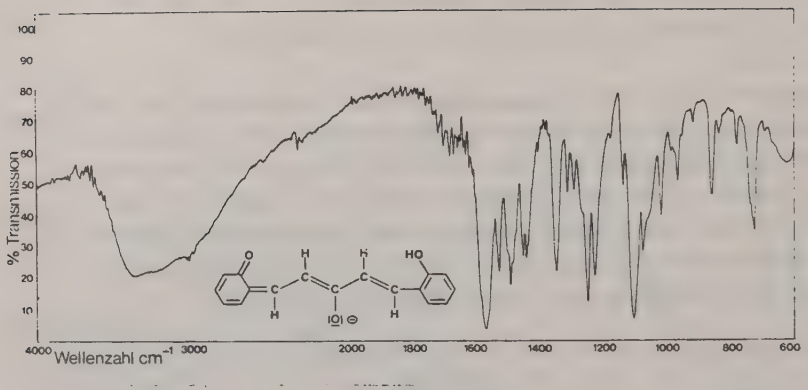


Abb. 15: IR-Spektrum des Natriumsalzes des Disalicylalacetons

Weiterhin wurde auch die Kernresonanzspektroskopie zur Strukturaufklärung herangezogen. Da die Protonenresonanzspektren keine eindeutigen Ergebnisse zeigten, wurden von beiden Substanzen, DSA und DSA-Natrium, ^{13}C-Spektren aufgenommen und miteinander verglichen. Als Lösungsmittel diente DMSO-d_6, das gleichzeitig auch Standard war.[x)]

x) Für die freundliche Aufnahme und Hilfe bei der Interpretation der Spektren danke ich Herrn Dr. Albert, Chemisches Institut der Universität Tübingen.

Das ^{13}C-Kernresonanzspektrum des Disalicylalacetons weist statt 17 nur neun Signale auf, da es sich um ein symmetrisches Molekül handelt. Das C-Atom der Carbonylgruppe, C-9, erscheint bei 188,8 ppm, die Verschiebung nach höherem Feld rührt von der Konjugation der CO-Gruppe mit olefinischen Seitenketten her. Das Atom C-2, das die phenolische OH-Gruppe trägt, liegt bei 157,2 ppm. Atom C-1 erscheint bei 121,5 ppm. Die Lage dieser drei quartären C-Atome wurde durch ein off-resonance-Spektrum bestätigt, da sie keine Kopplung mit Protonen zeigen. Die restlichen aromatischen sowie die olefinischen C-Atome, deren Bereich sich überlagert, wurden wie folgt zugeordnet:

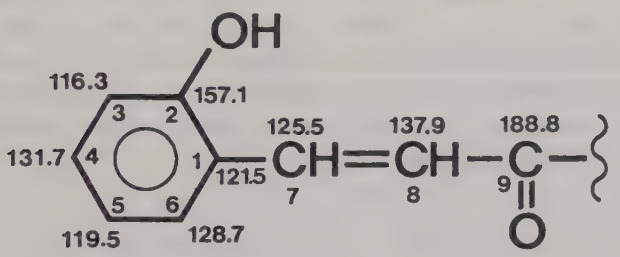


Abb. 16: ^{13}C-Signalzuordnung (in ppm, berechnet auf TMS) von Disalicylalaceton

Das Spektrum des Natriumsalzes des DSA zeigt ebenfalls neun Signale, deren Lage im Vergleich zum DSA Verschiebungen zeigt. Dies erscheint zunächst widersprüchlich, da ja durch die Enolisierung die Symmetrie des Moleküls aufgehoben ist. Die Anregungsschwelle zum Übergang von der einen mesomeren Grenzform zur anderen ist jedoch so niedrig, daß unter den üblichen Aufnahmebedingungen bei Raumtemperatur der Elektronenübergang unmeßbar schnell

vor sich geht. Die negative Ladung ist also über das gesamte Molekül delokalisiert zu denken, wodurch die Symmetrie erhalten bleibt.

Das Signal bei tiefstem Feld wird von der als Grenzform denkbaren Carbonylgruppe des chinoiden Rings verursacht. Konjugation mit Doppelbindungen ergeben einen Wert von 190,3 ppm, welcher im Bereich der Werte ungesättigter Sechsringketone liegt[22]. Am auffälligsten ist die Verschiebung des Wertes von C-9. Er beträgt 122,6 ppm, während er beim DSA bei 188,8 ppm liegt. Das bedeutet eine Aufhebung der Carbonylfunktion, ein Übergang in die Enolform. Diese erfährt eine erhöhte Abschirmung durch das positiv geladene Gegenion Natrium. Somit ist die Verschiebung nach höherem Feld erklärbar. Das Signal von C-1 erscheint bei tieferem Feld als das des DSA, es liegt bei 172,3 ppm; die Ketogruppe wirkt hier entschirmend. Auch die Lage dieser quartären Kohlenstoffatome wurde durch ein off-resonance-Spektrum bestätigt. Die restlichen C-Atome können folgendermaßen zugeordnet werden:

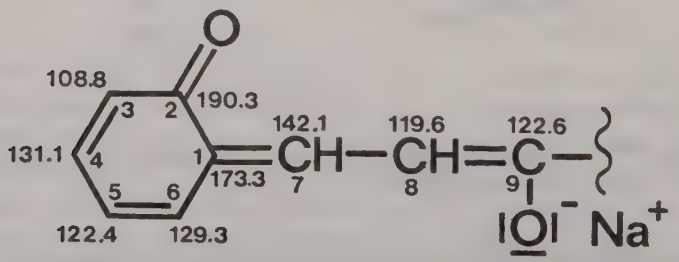


Abb. 17: ^{13}C-Signalzuordnung (in ppm, berechnet auf TMS) von DSA-Natriumsalz

22) Pretsch, Clerc, Seibl, Simon, Tabellen zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen mit spektroskopischen Methoden, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1976, C 175, C 180

Ein exaktes Erfassen einer mesomeren Grenzform wäre durch Aufnahme eines Tieftemperaturspektrums gegeben. Es würde für alle 17 C-Atome des Natriumsalzes die genauen Werte e i n e r Strukturform liefern, während bei dem vorstehend beschriebenen Spektrum stets die noch möglichen Mesomeren die Werte beeinflussen.

Allerdings ist die Vermessung wegen des hohen Erstarrungspunktes von DMSO-d_6 (ca. 0° C) nicht realisierbar.

Tabellarischer Vergleich der ppm-Werte

C-Atom	Disalicylalaceton	DSA-Natrium
1	121,5	173,3
2	157,1	190,3
9	188,8	122,6

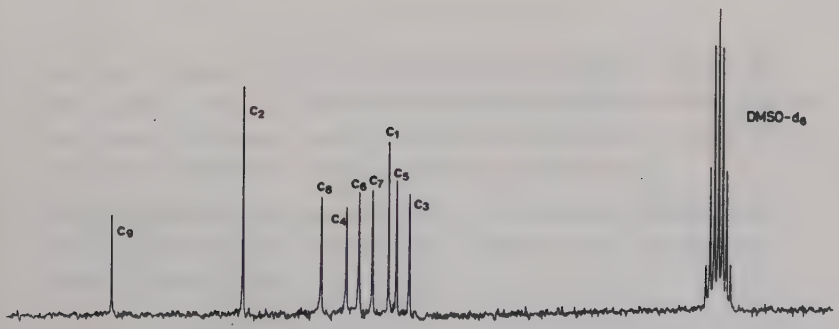


Abb. 18: ^{13}C-Spektrum des Disalicylalacetons (DMSO-d_6)

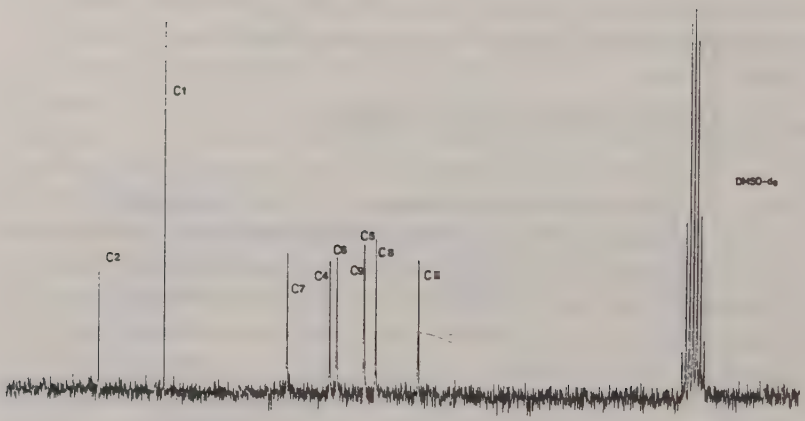
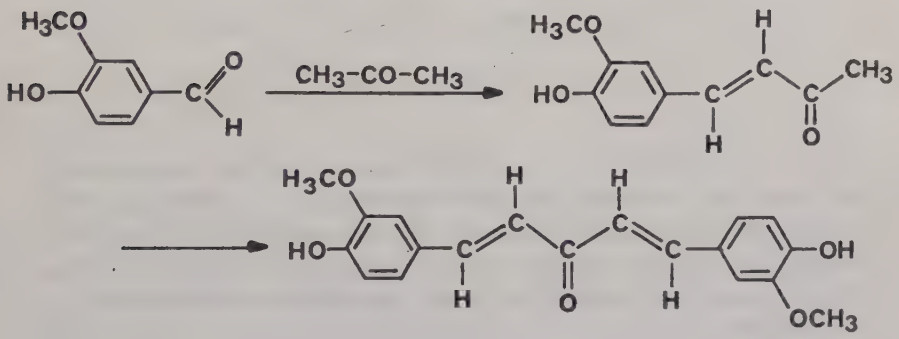


Abb. 19: ^{13}C-Spektrum des DSA-Natriumsalzes (DMSO-d_6)

5. Zusammenfassung

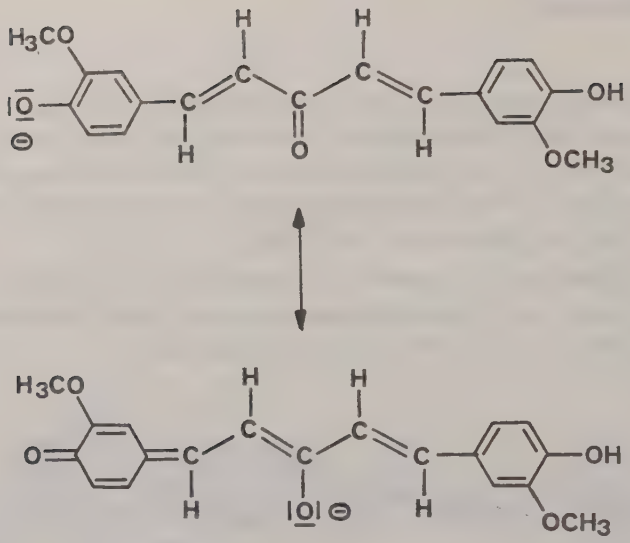
Es wurde die Reaktion von Vanillin und Aceton in stark alkalischer Lösung untersucht. Versetzt man eine äthanolische Lösung von Vanillin mit Aceton und konzentrierter Lauge, so färbt sich das Gemisch zuerst gelb und wird beim Erwärmen auf dem Wasserbad dunkelrot.

Aceton kondensiert in einer Aldolreaktion mit Vanillin unter Katalyse von Hydroxidionen zuerst zu Vanillalaceton, das sich weiter zu Divanillalaceton umsetzt.



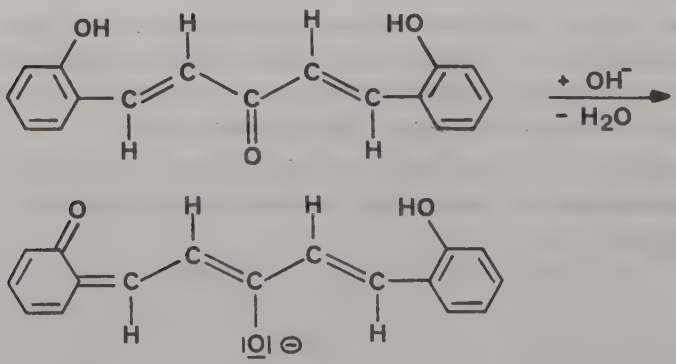
Aus der Lösung wurde der dunkelrote Farbstoff isoliert und untersucht. Im Dünnschichtchromatogramm wurden beide Produkte gefunden, wovon das Divanillalaceton unter Einwirkung von Lauge die rote Färbung verursacht.

Als Phenolderivat kann es unter Salzbildung zu einem Chinomethanderivat reagieren, welches durch Mesomerie stabilisiert ist:



Da das rote Farbsalz trotz verschiedener Reinigungsschritte nie frei vom Monosubstitutionsprodukt vorlag, wurde als Vergleichssubstanz das Natriumsalz des Disalicylalacetons gewählt, das sich kristallin und analysenrein darstellen läßt. Aus der wäßrigen Lösung fällt bei Säurezusatz Disalicylalaceton aus.

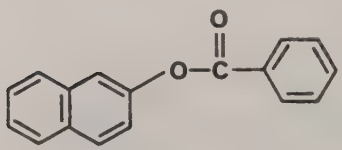
Beide Verbindungen wurden miteinander verglichen.



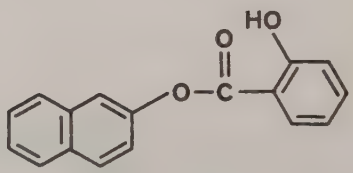
Mit Hilfe spektroskopischer Methoden, besonders der ^{13}C-Kernresonanzspektroskopie, wurde die Struktur des Natriumsalzes untersucht, wobei sich der Reaktionsablauf über Phenolatbildung zum Enolat bestätigte.
Die chinoide Teilstruktur als Teil der einen mesomeren Form kann aufgrund der chemischen Verschiebungen im Spektrum, das mit dem des Disalicylalacetons verglichen wurde, als gesichert gelten.

III. Die Reaktion des 2-Naphthylbenzoats(Benzonaphthol) mit Aceton und Lauge

Von den Arylcarbonsäureestern des 2-Naphthols werden als Arzneimittel hauptsächlich der Benzoesäureester ("Benzonaphthol") und der Salicylsäureester ("Betol") verwendet. Beide weisen antiseptische und antifungale Eigenschaften[23] auf, weshalb sie als Darmantiseptika bzw. äußerlich als Antimykotika[24] dienen.



2-Naphthylbenzoat



2-Naphthylsalicylat

Gebräuchlich sind diese Arzneistoffe noch in den romanischen Ländern[25], wo sie auch in die Pharmakopöen aufgenommen wurden[26]. In Deutschland waren sie lediglich in den Ergänzungsbänden zum DAB 5 (1910) und DAB 6 (1926) aufgeführt. Das Präparat OPOCARBYL(R) der Fa. Endopharm, das in Kombination mit anderen Stoffen 2-Naphthylbenzoat enthielt[27], ist in der Bundesrepublik Deutschland schon längere Zeit außer Handel.

---

23) M.L. Khorana, S.Y. Pandit und A.D. Pishawikar, J.pharm. Sci. 56, 993-7 (1967)
24) M.R. Baschwal und S.G. Deshpande, Indian J. Pharm. 29, 268-72 (1967)
25) L. Michele, Boll. Lab. Chim. Prov. 24, 63-72 (1973)
26) Pharmacopoea Gallica Editio VII 1949
27) Rote Liste 1971, herausgegeben vom Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V., Editio Cantor Aulendorf i. Württ. 1971

Zur qualitativen und auch quantitativen Bestimmung eignet sich besonders die Farbreaktion, die von ROMAIN[28] und Mitarbeitern beschrieben worden ist. Löst man den Ester in Aceton und versetzt mit etwas Kali- oder Natronlauge, so bildet sich an der Grenzfläche ein violetter Ring. Farbton und Reaktionsgeschwindigkeit hängen von verschiedenen Faktoren ab, unter anderem vom Wassergehalt, vom pH-Wert der Lösung und von der Temperatur. Verdünnt man mit Wasser, so wechselt die violette Farbe nach rot, um schließlich in gelb überzugehen. Auch bei Säurezusatz erfolgt Farbumschlag nach gelb. Die Reaktion ist irreversibel, bei erneuter Zugabe von Lauge tritt nach längerem Stehen kein Farbwechsel mehr auf.

Diese Reaktion ermöglicht zwar keine Unterscheidung zwischen 2-Naphthylbenzoat und -salicylat[29], doch eignet sie sich gut zur photometrischen Gehaltsbestimmung in pharmazeutischen Zubereitungen.

Zum qualitativen Nachweis der Ester dienen noch andere Reaktionen mit unterschiedlichen Reagenzien. Überschichtet man ein Gemisch von gelöstem 2-Naphthylbenzoat und konzentrierter Schwefelsäure mit Formalinlösung, so bildet sich an der Berührungstelle ein roter Ring, beim Mischen zeigt die dunkle Lösung eine grüne Fluoreszenz[30]. STRANEO[31] erhitzt 2-Naphthylbenzoat mit konzentrierter Schwefelsäure; es bilden sich 2-Naphtholdisulfonsäuren, deren Salze in alkalischer Lösung eine intensive grünblaue Fluoreszenz zeigen. Aus neuerer Zeit stammt die Umsetzung mit Eisenperchlorat und Hydroxylamin[32], bei der rotviolette oder violette Färbungen auftreten.

In dieser Arbeit wird die Reaktion nach ROMAIN näher untersucht.

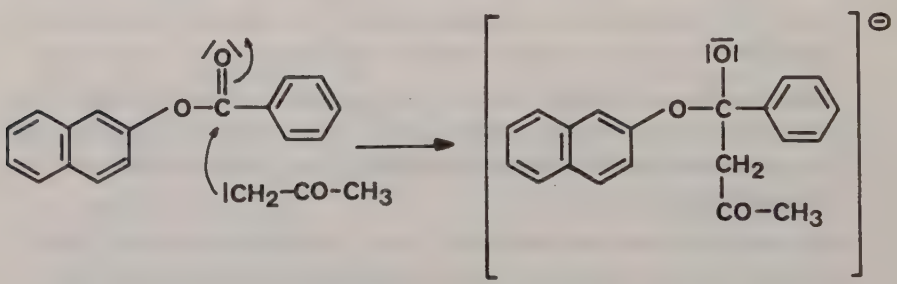
---

28) P.Romain, F. Clanet und P. Mesnard, Bull. Soc. pharm. Bordeaux 92, 188 (1954)
29) B.Kakac, Z.J. Vejdelek, Handbuch der Kolorimetrie Bd. II, Gustav Fischer Verlag, Jena, 1963, Seite 245.
30) A. Rossi, Boll. Chim. Farm. 58, 265 (1919)
31) C. Straneo, Farm. Ital. 9, 219 (1941)
32) L. K. Karpova, Farmatsiya (Moscow) 25, 79 (1976)

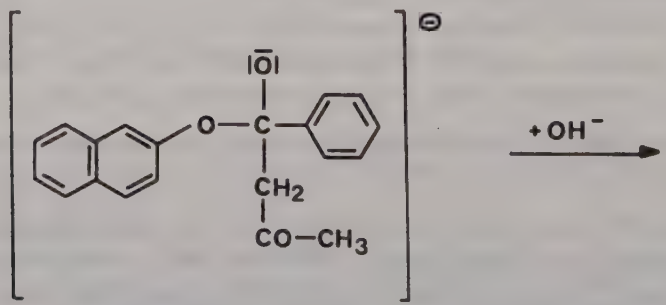
1. Möglicher Reaktionsmechanismus nach ROMAIN

Mesnard, Romain und Clanet[33] legen der Reaktion folgenden Mechanismus zugrunde:

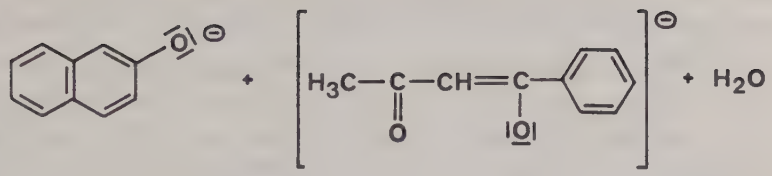
Aceton ist als CH-acide Verbindung in der Lage, mit Hydroxidionen ein Carbanion zu bilden. Dieses lagert sich an die polarisierte Carbonylgruppe des Esters zu einem Addukt an, welches für die Farbe verantwortlich sein soll, nach heutiger Auffassung aber nicht farbig sein kann.



Die allmähliche Entfärbung erklärt der Autor mit der Spaltung des Addukts durch überschüssige Hydroxidionen in ein Naphtholatanion und ein enolisiertes aliphatisch-aromatisches Diketon.



33) P. Mesnard, P. Romain und F. Clanet, Bull. Soc. pharm. Bordeaux 95, 57-8 (1956)



Dieser Mechanismus würde eine Erklärung dafür liefern, daß die Reaktion nur in Aceton, nicht aber in einem anderen Lösungsmittel verläuft[34]. Weiterhin ist die Estergruppierung Bedingung für einen positiven Ausfall der Farbreaktion; ein Gemisch aus 2-Naphthol und Benzoesäure gibt unter den gleichen Bedingungen nicht die Färbung[35].

2. Untersuchung der Farblösung mit 2-Naphthylbenzoat

Die Reaktionsbedingungen wurden wie bei den Untersuchungen von ROMAIN gewählt. Die Farbreaktion wurde in 80 %igem wäßrigen Aceton durchgeführt, da bei dieser Konzentration nach Zugabe von Lauge keine Auftrennung in zwei Phasen erfolgt. Als Lauge wurde stets 1 N-KOH verwendet; pro 10 ml Lösungsmittel 0,1 ml Lauge.
Alle Ansätze wurden eine Stunde lang bei 40° C im Wasserbad erwärmt, weil dann erst die Extinktion ihren höchsten Wert erreicht hatte.

---

34) P. Mesnard, P. Romain und J. Marzat, Bull. Soc. pharm. Bordeaux 90, 6-8 (1952)
35) P. Romain, P. Mesnard und F. Clanet, Bull. Soc. pharm. Bordeaux 92, 8-15 (1954)

Zur Aufnahme des Elektronenspektrums der Farblösung müssen hohe Esterkonzentrationen eingesetzt werden. Die konzentrierte Farblösung wird zur Messung verdünnt.

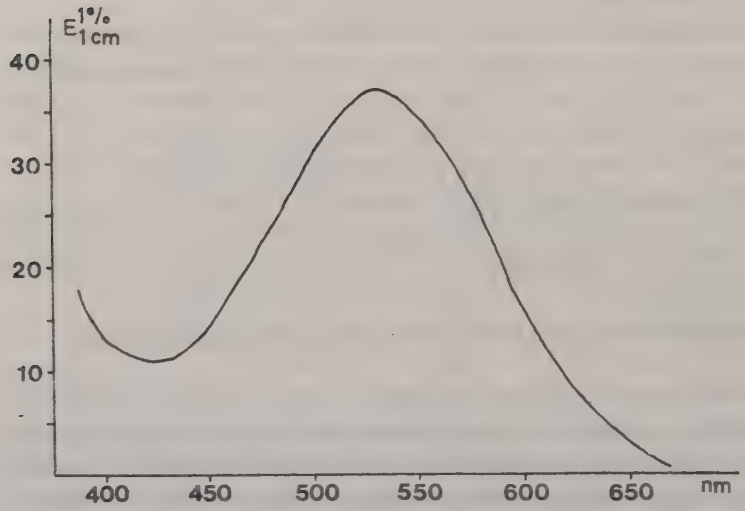


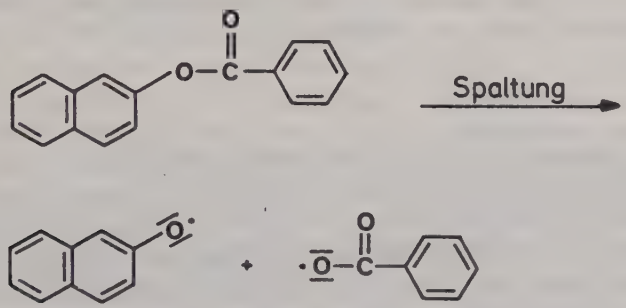
Abb. 20: Elektronenspektrum der Farblösung mit 2-Naphthylbenzoat

Das Maximum liegt bei 530 nm; unterhalb von 425 nm steigt die Kurve rasch an. Die Extinktion bei 530 nm ist relativ gering.

2.1. Untersuchung auf paramagnetische Eigenschaften

Im Verlauf der Versuche wurde auch ein ESR-Spektrum der Farblösung aufgenommen, um festzustellen, ob sich bei der Reaktion organische Radikale mit paramagnetischem Verhalten bildeten. Da das Ergebnis positiv war, wurden das 2-Naphthylbenzoat und ein Derivat weiteruntersucht.

Bei einer homolytischen Spaltung des 2-Naphthylbenzoats entstehen zwei Radikale, ein Naphthoxyl- und ein Benzoylradikal.

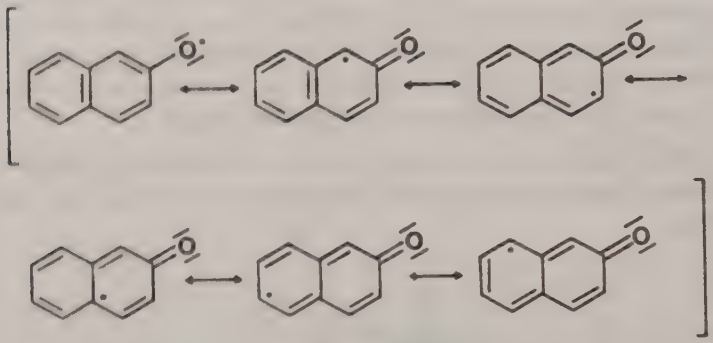


Im Vergleich zu anderen Radikalen, z.B. dem Tri-biphenylmethyl, das von SCHLENK[36] synthetisiert wurde und eine größere Haltbarkeit hat, ist die Beständigkeit der obigen nicht ausreichend groß, um sie zu isolieren, obwohl Mesomerieeffekte eine gewisse Stabilisierung bewirken.

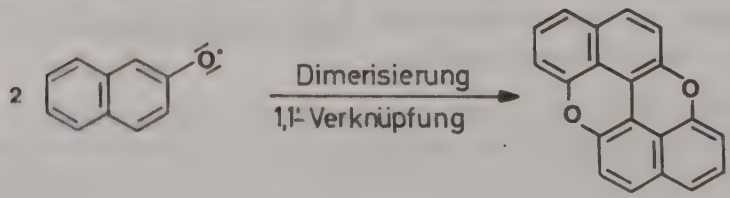
---

36) W. Schlenk, Justus Liebigs Ann. Chem. 372, 1 (1910)

Das Naphthoxylradikal läßt sich im wesentlichen durch sechs mesomere Grenzformeln beschreiben[37]:

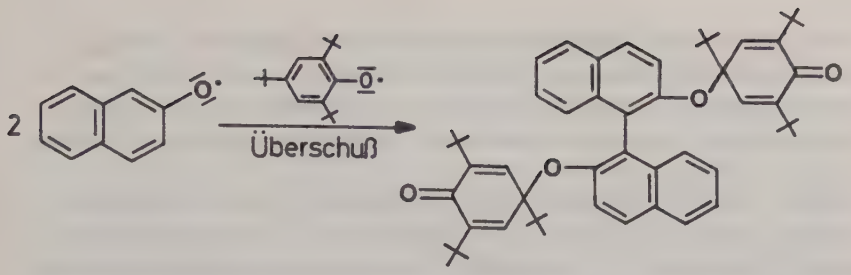


Primär entsteht also ein "Sauerstoffradikal", das sich weiter absättigt, da es sterisch unbehindert ist. Es kann mit sich selbst oder mit einem Fremdradikal reagieren. Dabei entsteht entweder ein Dimeres oder bei der Umsetzung mit 2,4,6-Tritert.-butyl-phenoxyl ein gemischter Chinoläther[38]. Bei der unspezifischen Oxidation von 2-Naphthol mit Silberoxid und UV-Bestrahlung erhält man neben anderen Produkten auch gelbes peri-Xanthenoxanthen, dessen Bildung vermutlich über ein Binaphthylradikal verläuft[39].



peri-Xanthenoxanthen

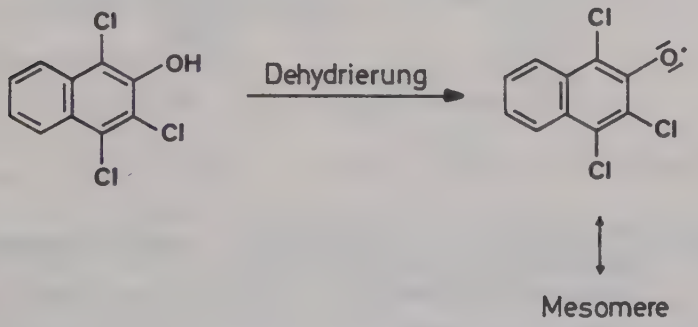
37) A. Rieker, N. Zeller, K. Schurr und E. Müller, Justus Liebigs Ann. Chem. 697, 2 (1966)
38) E. Müller, K. Ley und G. Schlechte, Ber. 90, 2671 (1957)
39) A. Rieker, N. Zeller, K. Schurr und E. Müller, Justus Liebigs Ann. Chem. 697, 14 (1966)



Gemischter Chinoläther

Dehydriert man dagegen substituierte 2-Naphthole, so können je nach Art der Substituenten stabile monomere Radikale entstehen. Allerdings reichen zwei raumfüllende Reste wie Tert.-butyl-gruppen in 1,6-Stellung (diese Verbindung ist experimentell darstellbar[40]) nicht aus, da das entstehende Radikal über die unbesetzte 3-Stellung noch weiterreagieren kann.

Erst die Substitution durch Chlor in Stellung 1,3 und 4 des 2-Naphthols ermöglicht bei der Dehydrierung die Bildung eines stabilen monomeren Radikals[41].



40) R. B. Contractor, A. T. Peters und F. M. Rowe, J. chem. Soc. 1949, 1993
41) A. Rieker, N. Zeller, K. Schurr und E. Müller, Justus Liebigs Ann. Chem. 697, 11 (1966)

Die Farbe vieler Naphthol-Radikale ist rotviolett. Da die zu untersuchende Reaktionslösung ebenso gefärbt war, ließ sich vermuten, daß durch Spaltung Naphthoxylradikale entstehen, deren Struktur untersucht werden sollte.

Das deutlichste Ergebnis bei der ESR-Messung lieferte eine Lösung von 200 mg Ester/10 ml Aceton (80 %ig) unter Zusatz von 1 ml 1 N-KOH. Nach einstündigem Erwärmen wurde das Spektrum der rotvioletten Lösung aufgenommen. Die Messung wurde bei 10 Gauß mit einer Durchlaufgeschwindigkeit von vier Minuten durchgeführt[x].

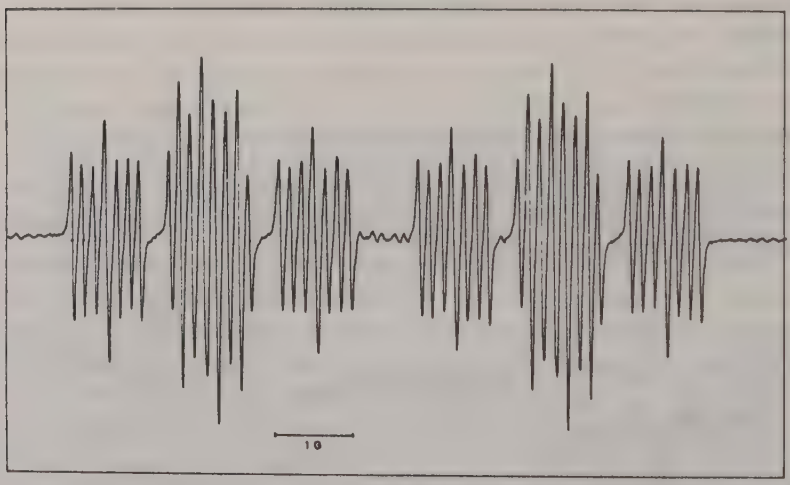


Abb. 21: ESR-Spektrum der Farblösung mit 2-Naphthylbenzoat
Durchlaufgeschwindigkeit: 4 min
Intensität: 10 Gauß

---

x) Wir danken dem Chemischen Institut, insbesondere Herrn Prof. Dr. Stegmann und Herrn Dr. Scheffler, für die freundliche Durchführung der Messungen und die Hilfe bei der Auswertung der Spektren.

Das Spektrum zeigt drei Hauptkomponenten mit einem Intensitätsverhältnis von annähernd 1 : 2 : 1. Die beiden äußeren sind in jeweils sieben, die mittlere in acht Linien aufgespalten. Berechnet man den g-Faktor, welcher außer der Hyperfeinstruktur (HFS) ein weiteres charakteristisches Merkmal ist, so beträgt er um 2,00443. Da ein Wert im Bereich von 2,00400 bei Radikalen üblich ist, bei denen das ungepaarte Elektron an einem Sauerstoffatom lokalisiert ist[42] (nicht berücksichtigt sind die mesomeren Formen), liegt die Vermutung nahe, daß es sich um ein Naphthalin-Sauerstoff-Radikal handelt.

Die Kopplungskonstanten a_H des freien Elektrons mit den Protonen weisen folgende Werte auf:

$a_{H(1)} = 0,14$ G $a_{H(4)} = 1,27$ G

$a_{H(2)} = 0,29$ G $a_{H(5)} = 1,41$ G

$a_{H(3)} = 0,45$ G $a_{H(6)} = 4,46$ G

Sie gleichen bis auf geringe Abweichungen den Konstanten, die ASHWORTH und DIXON[43] für ein Radikal erhielten, das durch Oxidation von 1,2-Naphthalindiol entstand.

Ihre Werte betragen:

$a_3 = 0,42$ G $a_6 = 1,42$ G

$a_4 = 4,46$ G $a_7 = 0,14$ G

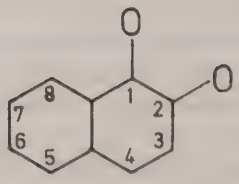
$a_5 = 0,28$ G $a_8 = 1,30$ G

Die Indices der unteren Konstantenreihe geben die Stellung der zugehörigen Protonen am Naphthalingerüst an.

---

42) H. Wardale, An Introduction to Spectroscopic Methods for the Identification of Organic Compounds, Vol. 2 Edit. Scheinmann, Pergamon Press, Oxford 1974, S. 174

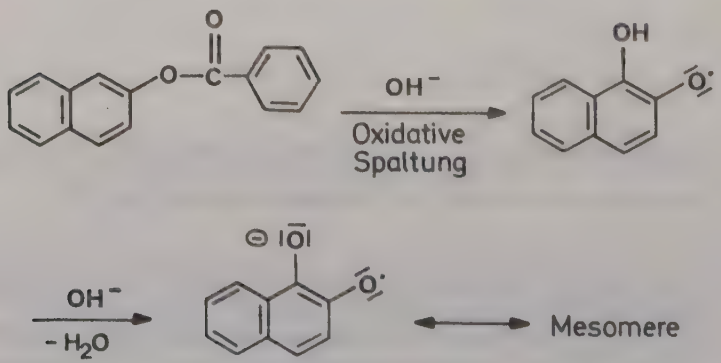
43) P. Ashworth und W. T. Dixon, J. chem. Soc. Perkin Trans. 2, 1974, 742



"Radikalskelett"

a_H der Eigensubstanz	a_H der Vergleichs-substanz	Stellung des Protons
0,14	0,14	7
0,29	0,28	5
0,45	0,42	3
1,27	1,30	8
1,41	1,42	6
4,46	4,46	4

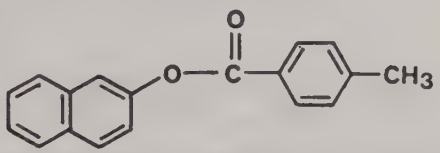
Es handelt sich demnach um ein 1,2-Naphthalinsemichinon, das bei der Farbreaktion mit 2-Naphthylbenzoat entsteht. Die Bildung des Radikals könnte folgendermaßen vor sich gehen:



Untersuchung der Farblösung mit p-Toluylsäure-2-naphthylester

Um festzustellen, ob der abgespaltene Säurerest einen Einfluß auf das entstehende Radikal hat, wurde die Benzoesäure durch andere Säuren ausgetauscht; denn nach ROMAIN[44] verläuft die Farbreaktion stets positiv, auch wenn der Säurerest aliphatisch oder aliphatisch-aromatisch ist.

Zunächst wurde deshalb der p-Toluylsäure-2-naphthylester (TSE) bei der Reaktion eingesetzt.



p-Toluylsäure-2-naphthylester(TSE)

Die Farbreaktion mit TSE wurde analog der mit 2-Naphthylbenzoat durchgeführt. Die Färbung stellte sich etwas langsamer ein, zeigte aber die gleiche Intensität.

Von dieser Lösung wurde Elektronenspektrum und ESR-Spektrum aufgenommen und mit denen der Farblösung von 2-Naphthylbenzoat verglichen.

---

44) P. Romain, P. Mesnard und F. Clanet, Bull. Soc. pharm. Bordeaux 92, 8-15 (1954)

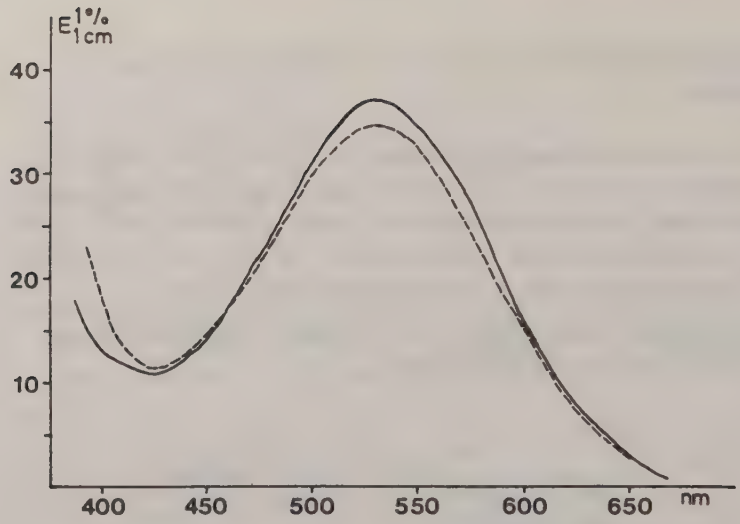


Abb. 22: Elektronenspektren der Farblösung mit TSE und 2-Naphthylbenzoat

——— = Farblösung mit 2-Naphthylbenz.
------ = " " TSE

Das Spektrum der Farblösung mit TSE weist ebenfalls ein Maximum bei 530 nm auf, die Extinktion ist geringfügig niedriger als bei der Farbreaktion mit 2-Naphthylbenzoat.

Zur Aufnahme eines ESR-Spektrums wurde eine Lösung von 200 mg TSE/10 ml Aceton (80 %ig) unter Zusatz von 1 ml 1 N-KOH hergestellt. Nach einstündigem Erwärmen wurde die Messung der rotvioletten Lösung bei 10 Gauß und mit einer Durchlaufgeschwindigkeit von acht Minuten vorgenommen.

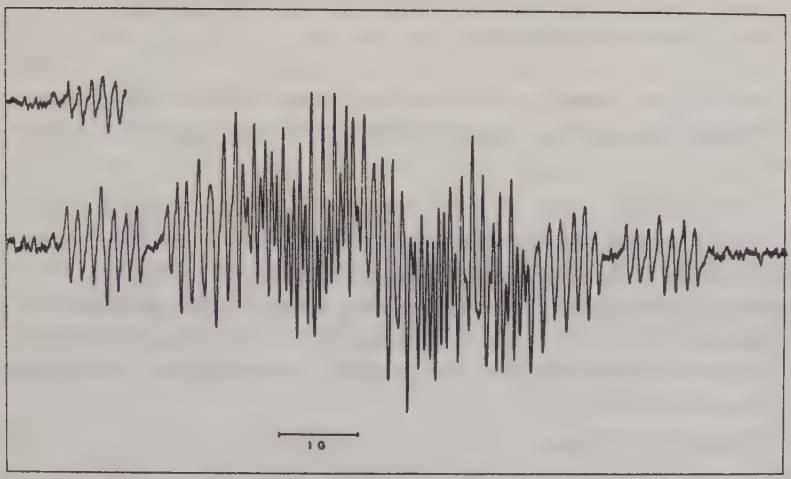


Abb. 23: ESR-Spektrum der Farblösung mit TSE
Durchlaufgeschwindigkeit: 4 min
Intensität: 10 Gauß

Das Spektrum dieser Verbindung ist so linienreich, daß eine eindeutige Zuordnung nicht möglich ist. Es zeigt eine Komponente geringerer Intensität; sie ist in sieben Linien aufgespalten. Die zweite Komponente weist eine Linienzahl über 30 auf, und die Intensitäten der Einzellinien lassen sich nicht in einem einfachen Zahlenverhältnis ausdrücken. Eine Messung derselben Lösung nach etwa 20 Minuten zeigt eine Intensitätsabnahme der ersten Komponente. Es ist zu vermuten, daß sich in der Reaktion mit TSE mehr als ein Radikal oder ein komplizierteres bildet, was zu dem linienreichen Spektrum führen könnte.

3. Chromatographische Untersuchung der Farblösung mit 2-Naphthylbenzoat

Da das Radikal selbst wegen seiner Kurzlebigkeit nicht zu isolieren ist, wurde die Farblösung auf Folgeprodukte untersucht.

Um den Farbstoff anzureichern, wurde die Farblösung zweimal mit Äther versetzt und geschüttelt. Der Äther mischte sich mit einem Teil des Acetons, und die Färbung war nur noch in der Wasserphase enthalten. Nach Zusatz von einigen Tropfen Essigsäure wurde mit $CHCl_3$ ausgeschüttelt, die Chloroformphase über Magnesiumsulfat getrocknet und dünnschichtchromatographisch untersucht.

Als Fließmittel diente ein Gemisch von Benzol/Essigester 3 + 1, das genügend polar war, um eine gute Trennung zu erreichen.

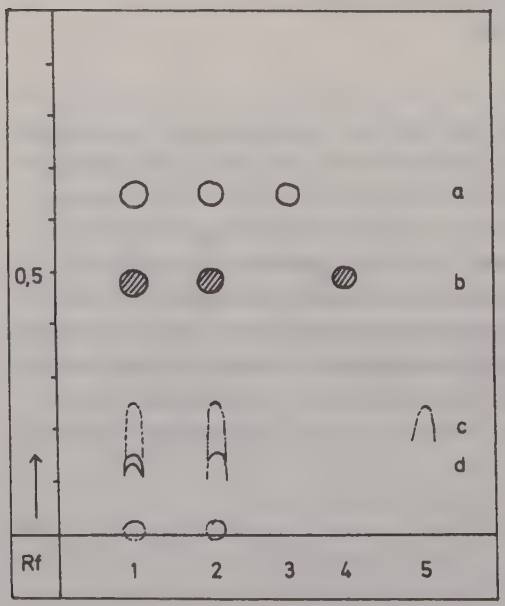


Abb. 24:

Schematisches DC von Farblösung, Chloroformphase und Vergleichssubstanzen

Adsorbens: Kieselgel F 254

Fließmittel: Benzol/Essigester 3+1

R_f-Werte der Flecke:

Fleck a 0,64
" b 0,47
" c 0,19
" d 0,12

1 = Farblösung
2 = Chloroformphase
3 = 2-Naphthylbenzoat
4 = 2-Naphthol
5 = Benzoesäure

Den größten R_f-Wert weist das 2-Naphthylbenzoat(a) auf, das in höherer Konzentration bei der Reaktion nicht vollständig umgesetzt wird. Weniger weit läuft eine Substanz(b), die denselben R_f-Wert wie das zum Vergleich aufgetragene 2-Naphthol aufweist. Besprüht man die Platte mit Sulfanilsäurelösung und salzsaurer Natriumnitritlösung (Diazo-Reagens DAB 7), so färben sich Fleck(b) und Vergleichssubstanz kräftig orange an. Da 2-Naphthol in der Lösung gefunden wurde, mußte auch Benzoesäure nachweisbar sein. Als Vergleichssubstanz wurde daher Benzoesäure aufgetragen, doch war bei dem relativ unpolaren Fließmittel das Ergebnis unbefriedigend. Bei Substanz d liegt die Vermutung nahe, daß es sich um ein Folgeprodukt des hydroxylierten 2-Naphthoxylradikals handelt. Da der R_f-Wert sich von dem der Substanz c kaum unterscheidet, wurde eine säulenchromatographische Trennung vorgenommen.

Nach Abtrennen von Substanz a und b erhielt man eine Fraktion, die bei nochmaliger DC-Untersuchung nur einen Fleck zeigte, der den gleichen R_f-Wert wie Substanz c aufwies. Die Substanz wurde nach vorsichtigem Einengen sofort zur Aufnahme eines Massenspektrums verwendet.

Das Massenspektrum weist wenige Fragmente hoher Intensität auf, was auf einen Aromaten hindeutet. Als Molekülpeak M^+ wurde der Peak bei m/e 122 ermittelt. Dieser Wert entspricht auch dem Molekulargewicht von Benzoesäure.

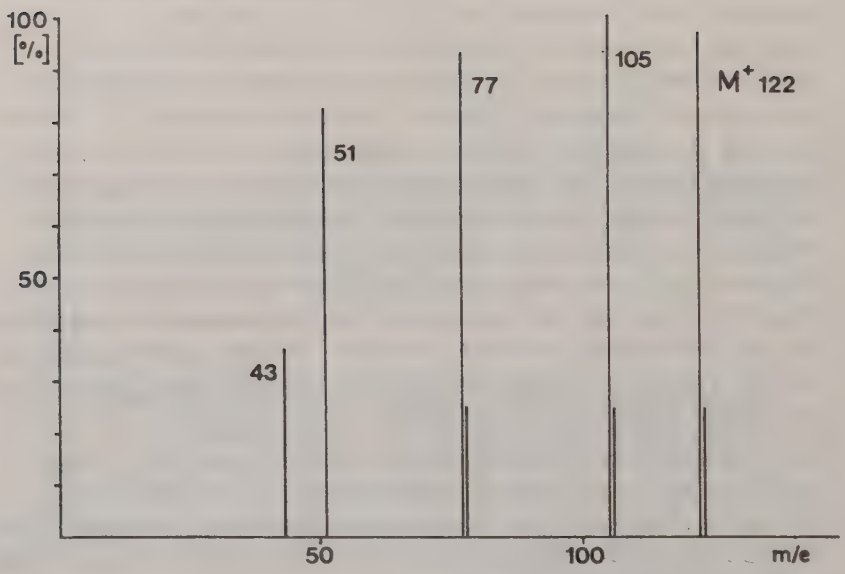
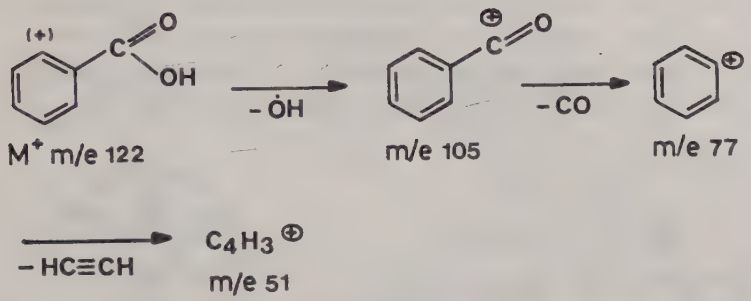


Abb. 25: Massenspektrum der Substanz c
Probe: 20° C
Ionenquelle: 250° C, 70 eV, Direkteinlaß

Zuerst erfolgt Abspaltung eines Hydroxidions, aus dem zurückbleibenden Benzoylkation m/e 105 wird CO eliminiert, was zum Phenylkation m/e 77 führt. Nach Ringöffnung und Abspaltung von C_2H_2 bleibt ein $C_4H_3^+$-Körper m/e 51 zurück.

Zusätzlich treten im Spektrum metastabile Peaks bei m/e 56,5 und 90,5 auf, was ebenfalls typisch für Benzoylverbindungen ist. Damit ist gesichert, daß es sich bei Substanz c um Benzoesäure handelt.

Zerfallsschema von Substanz c:



Dieselbe Fraktion wurde nochmals massenspektrometrisch bei steigenden Probetemperaturen vermessen. Dabei zeigte sich, daß trotz Einheitlichkeit auf der DC-Platte noch eine weitere Substanz in der Lösung enthalten war, die erst bei 210° C fragmentiert wird.

Im Massenspektrum fällt zuerst der Peak bei m/e 144 auf, dessen relative Intensität 100 % beträgt. Dies läßt vermuten, daß es sich um eine Verbindung handelt, in der 2-Naphthol enthalten ist. Allerdings konnte der Massenpeak M^+ nicht eindeutig bestimmt werden.

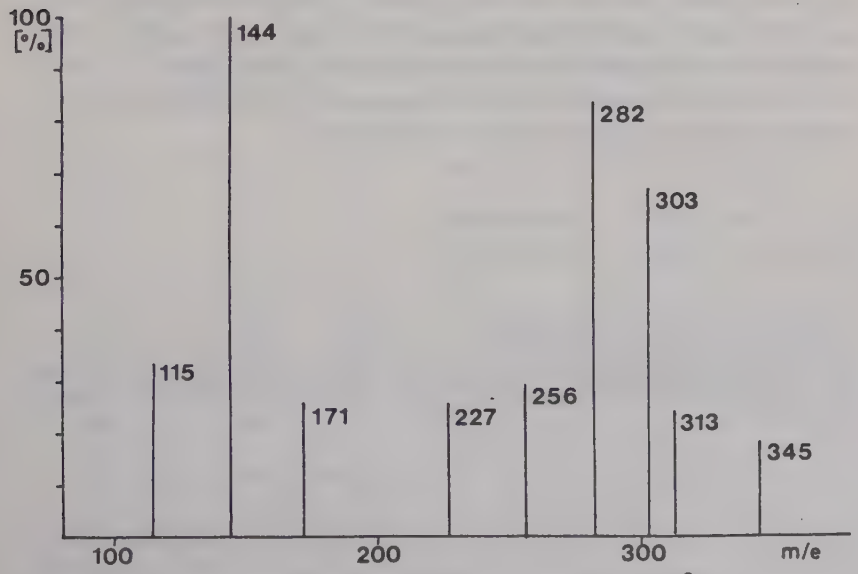
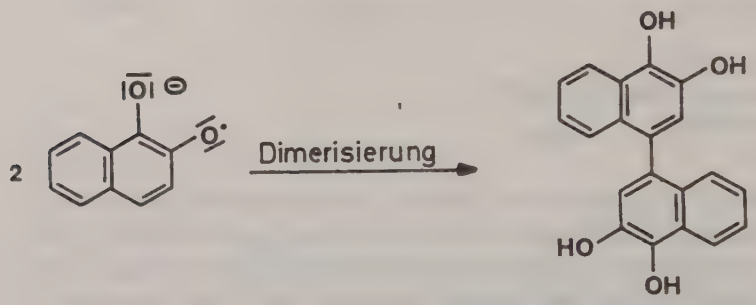


Abb. 26: Massenspektrum bei Probetemperatur 210° C

Es könnte also ein Folgeprodukt des 1,2-Naphthalinsemichinons sein, das sich aufgrund seiner hohen Reaktivität absättigt. Wie in Kapitel 2.1. aufgeführt wurde, kann als Stabilisierung eine Zusammenlagerung von Radikalen eintreten. Es entsteht das dimere Tetrahydroxybinaphthyl[45]:



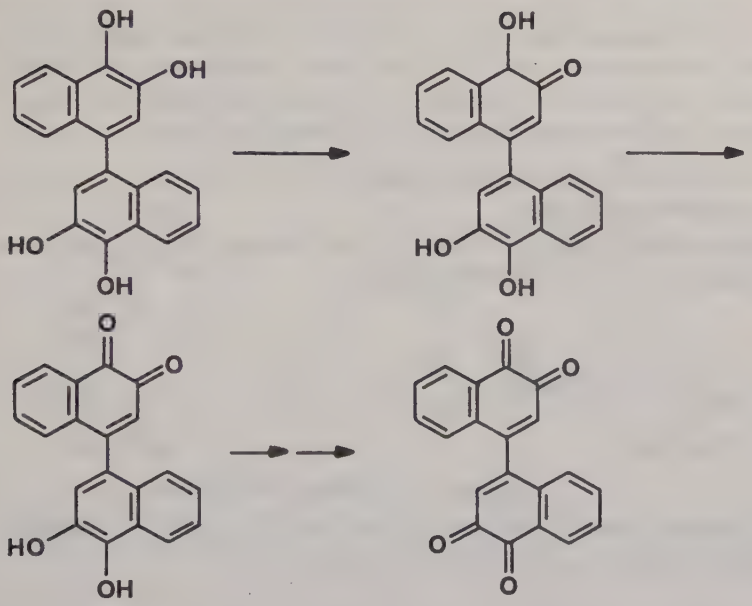
1,1',2,2'-Tetrahydroxy-binaphthyl

Der Massenpeak der dimeren Verbindung müßte bei m/e 318 erscheinen. Da im Spektrum kein Peak an dieser Stelle auftritt und das Produkt stark braun gefärbt war, liegt die Vermutung nahe, daß durch Oxidationsvorgänge ein Gemisch partiell dehydrierter Verbindungen entsteht, die sowohl phenolische als auch Chinongruppierungen aufweisen.
Für diese Folgereaktion spricht außerdem die Oxidationsempfindlichkeit phenolischer Verbindungen.

---

45) P. Ashworth und W. T. Dixon, J. chem. Soc. Perkin Trans. 2, 1974, 741

Es wären folgende Oxidationsprodukte denkbar:



Eine dc Untersuchung der Fraktion nach einigen Stunden ergab eine Zersetzung in vier bis fünf weitere Substanzen, was die obige Vermutung bestätigt. Eine eindeutige Zuordnung des Massenspektrums zu einer definierten Substanz ist deshalb nicht möglich.

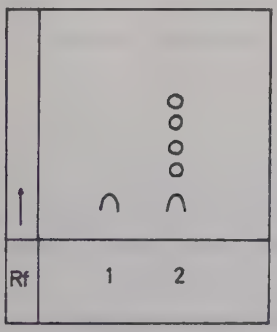


Abb. 27: DC der Fraktion

Adsorbens: Kieselgel F 254
Fließmittel: Benzol/Essigester
3 + 1

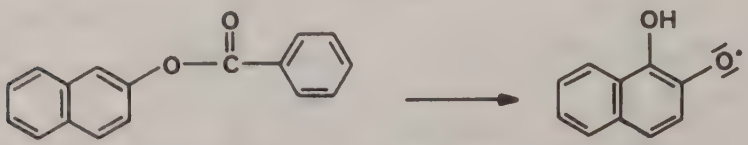
1 = Fraktion, sofort nach der Abtrennung von der Säule

2 = Fraktion nach mehrstündigem Stehen

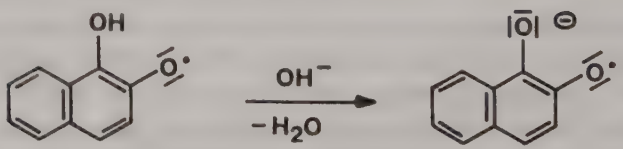
4. Zusammenfassung

Es wurde die Reaktion von 2-Naphthylbenzoat in Aceton und Lauge untersucht. Löst man den Ester in 80 %igem wäßrigem Aceton und versetzt mit etwas 1 N-KOH, so färbt sich die Lösung nach Erwärmen bei 40° C intensiv violett.

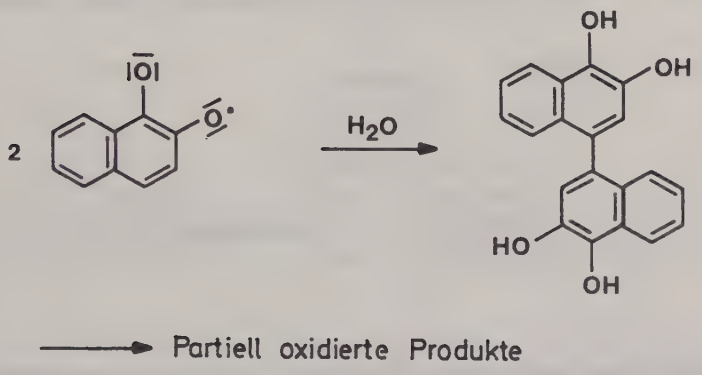
Das ESR-Spektrum der Farblösung zeigt paramagnetische organische Radikale an.
Der Reaktionsablauf besteht in der Spaltung des Esters und Hydroxylierung des Naphthols:



Das Primärradikal reagiert weiter zum 1,2-Naphthalinsemichinon, das rotviolett gefärbt ist.



Das 1,2-Naphthalinsemichinon reagiert mit sich selbst zu einem Dimeren, das weiter oxidiert wird. Damit ändert sich die Farbe der Lösung von rotviolett nach braungelb.



Es findet also keine Kondensation zwischen Ester und einem Carbanion, gebildet aus Aceton, statt. Die Farbänderung beruht auch nicht auf der Zerlegung des Addukts in Naphthol und Benzoylaceton. Vielmehr sättigt sich das Radikal durch Dimerisierung zu einem Binaphthyl ab, was eine Farbänderung zur Folge hat. Die Reaktionsprodukte wurden mit Ausnahme des nicht faßbaren Radikals isoliert und spektroskopisch untersucht oder dünnschichtchromatographisch nachgewiesen.

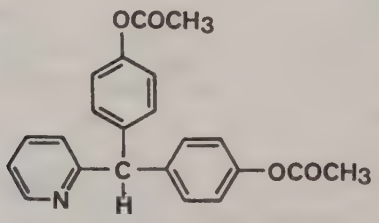
Daß aus dem Ester durch oxidative Spaltung Radikale entstehen, ohne daß ein Oxidationsmittel zugesetzt wurde, läßt sich damit erklären, daß ein Ester, der aus einem Phenol und einer aromatischen Säure besteht, leichter oxidiert wird als das freie Phenol oder die freie Säure[46].

---

46) R. N. Kharitonova, Khim. Nauka Promst. 1968, 48-53

IV. Die Reaktion des Bisacodyls mit Natriumhydrid

Von den modernen Laxantien ist heute vor allem das Bisacodyl gebräuchlich, dessen Wirkungsmechanismus von L. SCHMIDT, E. SEEGER und anderen untersucht wurde[47) 48) 49)].



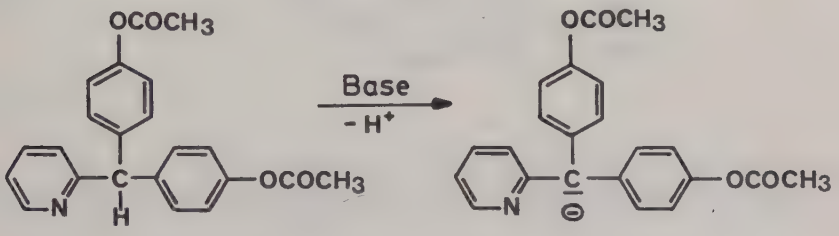
Bisacodyl ist ein Diphenylpyridylmethan, dessen p-ständige Hydroxylgruppen der beiden Phenolringe acetyliert sind. Zum qualitativen Nachweis kann deshalb die Reaktion mit konzentrierter Schwefelsäure herangezogen werden, die bei Diphenylpyridylmethan und dessen Derivaten eine Rotfärbung bewirkt[50)]; anstelle von Schwefelsäure kann auch ein Gemisch aus Kaliumdichromat und Salzsäure eingesetzt werden.

Nach A. RUSSANOW wird Bisacodyl mit Bromwasser erwärmt und das entstehende "Harz" in Äthanol gelöst. Nach Zugabe von etwas Lauge entsteht eine blaue bis rotviolette Färbung[51)].

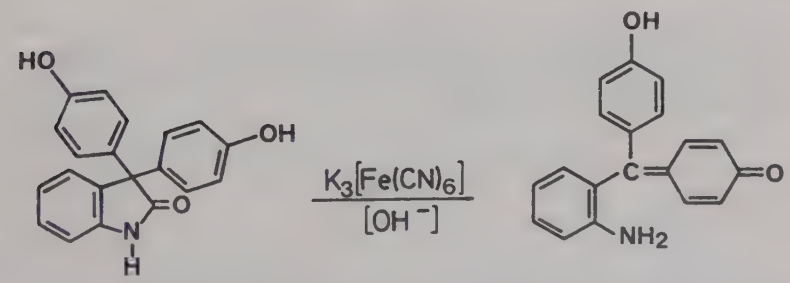
---

47) L. Schmidt und E. Seeger, Arzneim.Forsch. 6, 24 (1956)
48) H. Göing und W. Schaumann, Arzneim. Forsch. 5, 282 (1955)
49) L. Schmidt, Arzneim.Forsch. 3, 19 ff. (1953)
50) A. E. Tschitschibabin und S. W. Benewolenskaja, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 61, 551 (1928)
51) A. Russanow, Ber. Dtsch.Chem.Ges. 22, 1942 (1889)

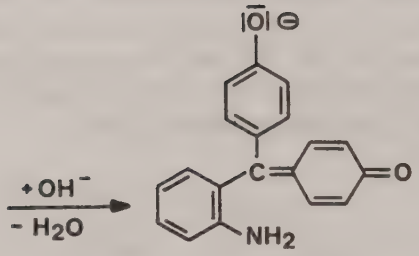
Triphenylmethane können mit Hilfe starker Basen in geeigneten Lösungsmitteln in farbige Carbanionen übergeführt werden[52]. Da Bisacodyl ein substituiertes Triarylmethan darstellt, wurde versucht, ob bei der Umsetzung mit einer starken Base eine Färbung auftritt, die eventuell auf die Bildung eines Carbanions zurückzuführen wäre.



Andererseits weist Bisacodyl eine gewisse Verwandtschaft mit dem Oxyphenisatin auf, das zwei freie p-ständige phenolische Hydroxylgruppen besitzt. Eine Oxidation des Oxyphenisatins mittels $K_3[Fe(CN)_6]$ in alkalischem Medium führt zu einem substituierten "Benzaurin", das sich unter Bildung des rotviolett gefärbten monovalenten Phenolats löst[53].



52) A. Streitwieser und G. Häfelinger, Chem. Ber. 101, 657 (1968)
53) R. Lang, Dissertation Tübingen 1973



Da im Bisacodyl ein ähnliches Grundgerüst vorliegt, wurde die Oxyphenisatin-Reaktion auch mit Bisacodyl durchgeführt.

1. Untersuchung der Farblösung nach Umsetzung mit Natriumhydrid

Wasserfreies Acetonitril wird mit Natriumhydrid versetzt. Gibt man etwas Bisacodyl dazu, so färbt sich die überstehende Lösung nach vorsichtigem Erwärmen blau. Die Färbung ist relativ beständig und verblaßt erst nach einigen Stunden.

Das Elektronenspektrum der Farblösung zeigt ein Maximum bei 580 nm. Die Extinktion ist niedrig, die Reaktion also nicht sonderlich empfindlich.

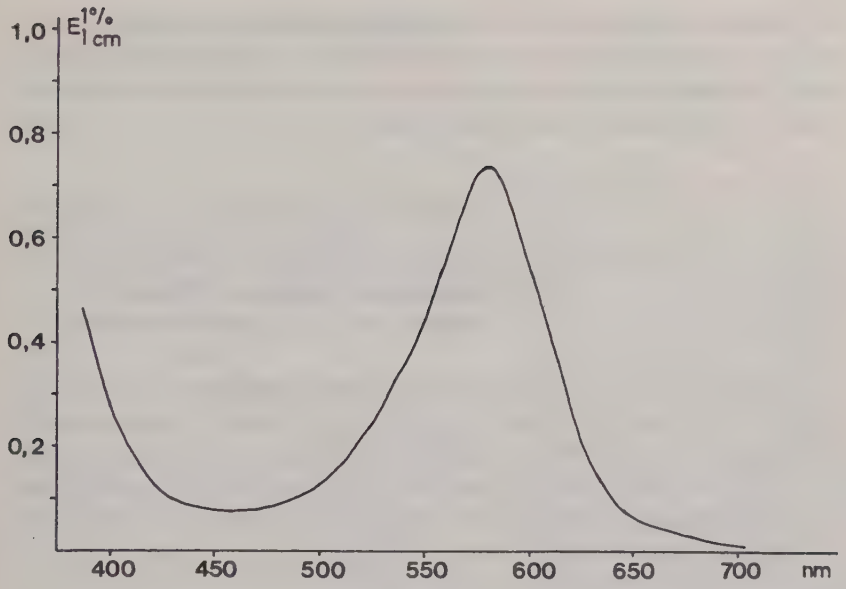


Abb. 28: Elektronenspektrum der Farblösung nach Umsetzung mit NaH in Acetonitril

Versetzt man die Farblösung vorsichtig mit Wasser, so tritt unter stürmischer Wasserstoffentwicklung Entfärbung ein. Da in wäßrigem Medium durch die starke Base eine Spaltung der Estergruppierungen erfolgt, wurde die Lösung nach Neutralisation mit Salzsäure ammoniakalisiert und mit einem Gemisch aus Chloroform/Isopropanol 3 + 1 ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde weiter untersucht.

Als Vergleichssubstanzen zur Dünnschichtchromatographie wurden Bisacodyl und das entacetylierte Produkt, Bis(4-hydroxyphenyl)-pyridylmethan aufgetragen. Ein Gemisch aus Chloroform Aceton 7 + 3 diente als Fließmittel.

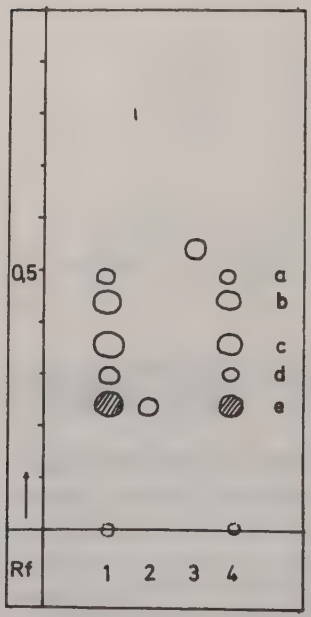


Abb. 29: Schematisches DC der aufgearbeiteten Farblösung mit Bisacodyl

Adsorbens: Kieselgel F 254

Fließmittel: Chloroform/Aceton 7 + 3

Rf-Werte der Flecke:

Fleck	a	0,57
"	b	0,52
"	c	0,45
"	d	0,39
"	e	0,33

1,4 = Organische Phase

2 = Bis(4-hydroxyphenyl)-pyridylmethan

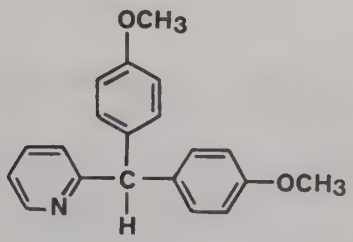
3 = Bisacodyl

Die organische Phase enthält fünf Substanzen. Das DC zeigt, daß die Ausgangsverbindung Bisacodyl nicht mehr enthalten ist. Fleck e weist denselben Rf-Wert wie das zum Vergleich aufgetragene entacetylierte Produkt auf und zeigt die größte Intensität. Bei längerem Stehen des Dünnschichtchromatogramms an der Luft färben sich Fleck e und die Vergleichssubstanz gelb. Dies spricht dafür, daß bei der Farbreaktion mit Natriumhydrid der größte Teil des Bisacodyls vollständig entacetyliert wird. Bei den anderen Produkten, die nicht weiter

untersucht wurden, könnte es sich um partiell entacetylierte Verbindungen handeln, da Substanzen mit einer Phenolestergruppe unpolarer sind als die entsprechenden Phenole und somit einen größeren Rf-Wert aufweisen.

2. Untersuchung des Dimethyläthers (Bis 2) des Bis(4-hydroxyphenyl)-pyridylmethans

Um festzustellen, inwieweit die Farbbildung auf das Entstehen eines Carbanions zurückzuführen ist, wurde als Vergleichsubstanz der Dimethyläther des entacetylierten Bisacodyls hergestellt. Mit dieser Substanz wurden die gleichen Reaktionen wie mit dem Bisacodyl durchgeführt.



Der Dimethyläther wurde deshalb gewählt, weil seine Äthergruppierungen gegenüber NaH stabil sind.

Löst man den Dimethyläther in Acetonitril und versetzt mit Natriumhydrid, so stellt sich beim Erwärmen allmählich eine rotbraune Färbung ein. Da Triphenylmethylcarbanionen rot bis rotviolett gefärbt sind, kann gefolgert werden, daß auch der Dimethyläther durch Abspalten des schwach aciden Wasserstoffatoms in ein Carbanion übergeführt wird.

Allerdings wird viel Substanz benötigt, um eine deutliche Färbung zu erzielen, und unter Normalbedingungen dürfte nur ein Teil umgesetzt werden. Nach STREITWIESER[54] sind extreme Bedingungen wie absoluter Ausschluß von Luftfeuchtigkeit und -sauerstoff sowie Arbeiten unter Argon erforderlich, um eine quantitative Umsetzung zu erreichen.

Eine Aufarbeitung der Farblösung wie bei der Reaktion mit Bisacodyl bestätigte die Annahme, daß bei der Umsetzung des Dimethyläthers mit NaH ein Carbanion entsteht. Nach Zersetzen mit Wasser wurde ausgeäthert und die Ätherphase dc untersucht.

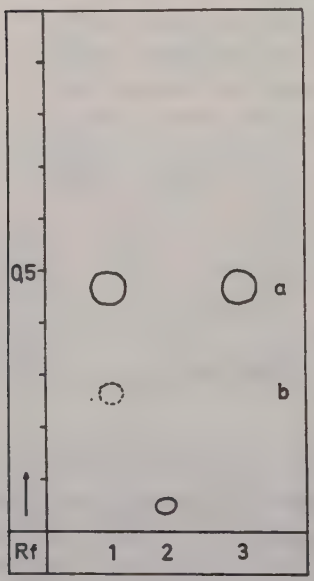


Abb. 30: Schematisches DC der aufgearbeiteten Farblösung mit dem Dimethyläther

Adsorbens: Kieselgel F 254
Fließmittel: Chloroform/Aceton
9 + 1
Rf-Werte der Flecke:

Fleck a 0,47
" b 0,26

1 = Ätherphase
2 = Entacetyliertes Produkt
3 = Dimethyläther

54) A. Streitwieser und G. Häfelinger, Chem. Ber. 101, 658 (1968)

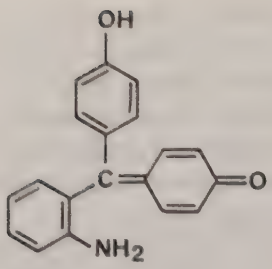
Aus dem Dünnschichtchromatogramm wird ersichtlich, daß nach der Behandlung mit NaH der größte Teil wieder als Dimethyläther vorliegt. Zersetzt man die Farblösung mit Wasser, so wird ein Proton aus dem Wassermolekül an das Carbanion wieder angelagert. Ein kleiner Teil wird zu einem Nebenprodukt umgewandelt, das nicht weiter untersucht wurde. Im Bisacodyl liegen dagegen zwei Estergruppierungen vor, die in wasserfreiem Medium mit Natriumhydrid noch keine Reaktion zeigen. Als erster Reaktionsschritt kann deshalb die Abspaltung des Wasserstoffatoms am tertiären C-Atom als Proton erfolgen. Bleibt die Lösung jedoch längere Zeit der normalen Luftfeuchtigkeit ausgesetzt, so beginnt bereits Spaltung der Esterbindung durch die stark basische Lösung. Der kleine Anteil an freiem Phenol kann durch den Luftsauerstoff zu einem Chinomethanderivat oxidiert werden, welches in der stark basischen Lösung zu einem farbigen Phenolation weiterreagieren kann.

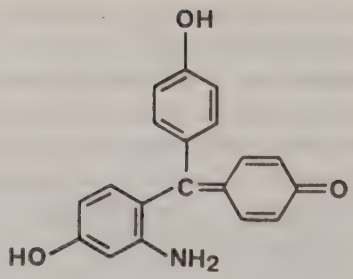
3. Reaktion des Bisacodyls mit $K_3[Fe(CN)_6]$ im Alkalischen

Nach DAB 7/DDR wird Oxyphenisatin durch Umsetzung mit $K_3[Fe(CN)_6]$ in alkalischer Lösung nachgewiesen. Das Reaktionsgemisch färbt sich rotviolett. Nach R. LANG entstehen als farbbildende Komponenten zwei Benzaurinderivate, die sich unter Phenolatbildung mit rotvioletter Farbe lösen[55]. Bei dem einen Produkt handelt es sich um das 2'-Aminobenzaurin[56], bei dem anderen um die in 4'-Stellung zusätzlich hydroxylierte Substanz[57].

---

55) H. Auterhoff und R. Lang, Dtsch. Apoth. Ztg. 113, 1927-28 (1973)
56) A. v. Bayer und M. I. Lazarus, Ber. dtsch. chem.Ges. 18, 2642 (1885)
57) C. Liebermann und N. Danaila, Ber. dtsch. chem.Ges. 40, 3588 (1907)





Da Acetylphenylester bereits unter sehr milden Bedingungen verseift werden[58], war zu erwarten, daß auch beim Bisacodyl die Farbreaktion positiv ausfallen würde.

Löst man etwas Bisacodyl in Äthanol und versetzt mit Lauge, so färbt sich bei Zugabe von $K_3[Fe(CN)_6]$ die Lösung rotviolett. Auch bei dem entacetylierten Produkt fällt die Reaktion positiv aus. Versetzt man dagegen Bisacodyl nur mit Lauge o h n e das organische Lösungsmittel, so tritt nach Zugabe von $K_3[Fe(CN)_6]$ keine Färbung auf.

Die Farbreaktion wurde mit Bisacodyl und mit dem entacetylierten Produkt durchgeführt und die Elektronenspektren beider Lösungen miteinander verglichen. Sie sind in Abbildung 31 dargestellt.

---

58) E. Fischer und W. Lipschitz, Ber.dtsch.chem.Ges. 51, 45 (1918)

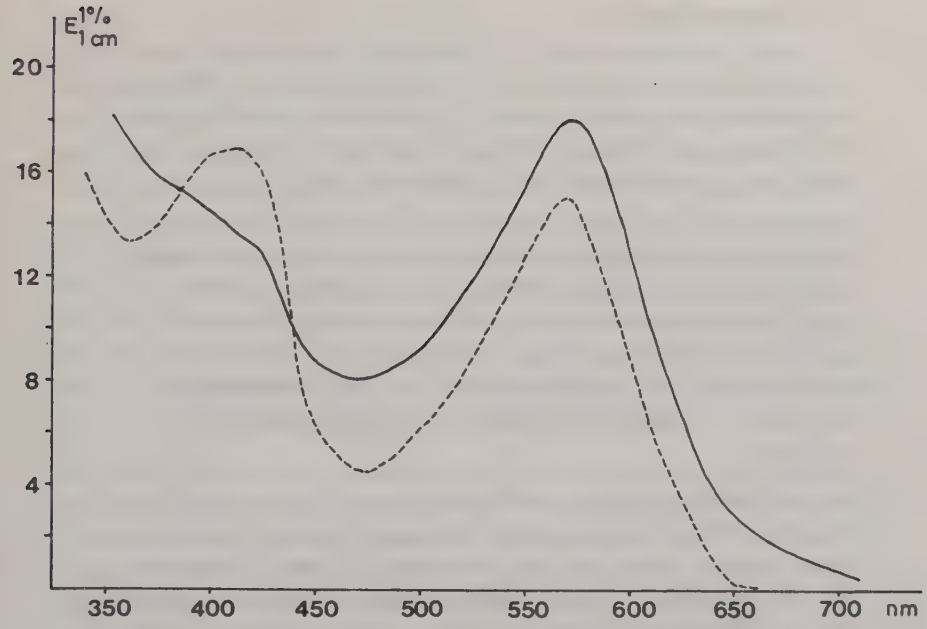


Abb. 31: Elektronenspektren der Farblösungen

——— = Reaktion mit dem entacetylierten Produkt

----- = Reaktion mit Bisacodyl

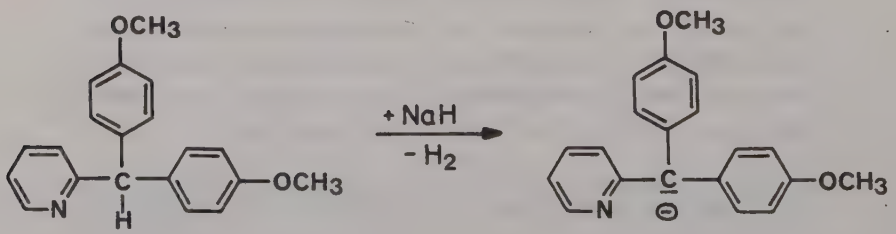
Die Absorptionsmaxima beider Lösungen liegen bei 570 nm. Aufgrund der großen Ähnlichkeit der Grundstruktur von Oxyphenisatin und Bisacodyl kann geschlossen werden, daß auch bei der Reaktion des Bisacodyls mit Hexacyanoferrat(III) durch Oxidation ein Chinomethan entsteht. In Lauge gelöst, stellt es die Farbkomponente dar. Inwieweit sich noch Nebenprodukte, z.B. hydroxylierte Verbindungen, bilden, wurde nicht näher untersucht.

4. Zusammenfassung

Es wurde die Reaktion des Bisacodyls mit Natriumhydrid untersucht. Versetzt man ein Gemisch aus wasserfreiem Acetonitril und Natriumhydrid mit etwas Bisacodyl, so färbt sich die Lösung nach Erwärmen allmählich blau.

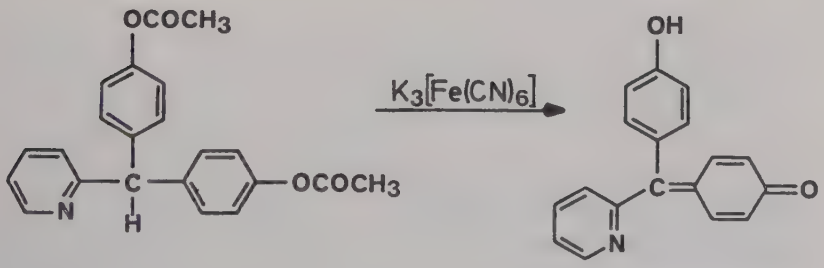
Von der Struktur des Bisacodyls her boten sich zwei Möglichkeiten der Farbbildung an. Einerseits kann durch Abspalten des Wasserstoffatoms am tertiären C-Atom mittels der starken Base Natriumhydrid ein Carbanion gebildet werden. Andererseits wird durch Abspaltung der Acetylgruppen die Oxidation zu einem p-chinoiden "Benzaurin" analog der Reaktion des Oxyphenisatins ermöglicht.

Als Vergleichssubstanz wurde der Dimethyläther des Bis(4-hydroxyphenyl)-pyridyl-methans untersucht. Die Äthergruppierungen sind im Vergleich zu den Estergruppen des Bisacodyls gegenüber Natriumhydrid stabil. Führt man die Reaktion mit Natriumhydrid in Acetonitril durch, so färbt sich die Lösung rotbraun. Wegen der großen Ähnlichkeit des Dimethyläthers mit Triphenylmethan kann die Färbung auf die Bildung eines Carbanions zurückgeführt werden. Allerdings verläuft die Reaktion nur unter absolutem Feuchtigkeitsausschluß quantitativ. Zersetzt man die Farblösung mit Wasser, so wird die Ausgangsverbindung wieder gebildet.



Bisacodyl selbst zeigt dagegen ein abweichendes Verhalten. Primär kann durch Natriumhydrid in wasserfreiem Milieu durch Abspaltung des Wasserstoffatoms am tertiären C-Atom ein Carbanion gebildet werden. Als Konkurrenzreaktion setzt durch den Einfluß der Luftfeuchtigkeit eine Abspaltung der labilen Estergruppen ein. Durch Oxidation des entstehenden Phenols können Chinomethane gebildet werden, die eine Färbung der Lösung bedingen. Dies wird durch die dünnschichtchromatographische Untersuchung der mit Wasser zersetzten Farblösung bestätigt. Als Hauptprodukt entsteht aus dem Bisacodyl das entacetylierte Produkt, daneben finden sich in dem Gemisch weitere Nebenprodukte. Bei diesen handelt es sich vermutlich um partiell entacetylierte Derivate.

In Analogie zur Nachweisreaktion des Oxyphenisatins wurden Bisacodyl und seine entacetylierte Verbindung mit $K_3[Fe(CN)_6]$ in alkalischer Lösung umgesetzt. Beim entacetylierten Produkt trat sofort Violettfärbung ein, beim Bisacodyl erst, wenn es zuvor in Äthanol gelöst und mit Lauge behandelt wurde. Bei der farbgebenden Komponente könnte es sich um ein 4-Hydroxyphenyl-pyridyl-chinomethan handeln, welches dem 4-Hydroxyphenyl-2-aminophenyl-chinomethan der Reaktion mit Oxyphenisatin entsprechen würde.



Von der Farblösung des Bisacodyls mit Natriumhydrid und der des Bisacodyls mit $K_3[Fe(CN)_6]$ wurden Elektronenspektren aufgenommen und miteinander verglichen. Beide Spektren weisen große Ähnlichkeit auf, nur die Lage der Maxima unterscheidet sich um 10 nm.

Zusammenfassung: Bei der Umsetzung von Bisacodyl mit Natriumhydrid in Acetonitril entsteht zuerst ein Carbanion, dann aber erfolgt durch den Einfluß der Luftfeuchtigkeit als Sekundärreaktion eine Spaltung des Moleküls zum freien Phenol, das weiter zu einem Chinomethanderivat oxidiert werden kann.

V. Zusammenfassung

Die pharmazeutisch gebräuchlichen Farbreaktionen, die im sauren Milieu durchgeführt werden, sind relativ gut bekannt und ihr Mechanismus häufig aufgeklärt. Je nach Art der Reaktionspartner können so verschiedene Produkte entstehen wie Radikale, Carbeniumionen, Chinone, Polymethinfarbstoffe und Komplexe.

Die Zahl der pharmazeutisch gebräuchlichen Farbreaktionen, die im alkalischen Milieu durchgeführt werden, ist dagegen wesentlich kleiner und der Reaktionsverlauf unbekannter. Eine Untersuchung der ausgewählten Beispiele zeigt, daß auch hier Radikale und Chinone sowie Komplexe entstehen können. Charakteristisch für das alkalische Milieu ist die Bildung von Carbanionen. Sie ist meist mit Substitution aromatischer Kerne durch Nitrogruppen gekoppelt, wie das Beispiel des Atropins (Vitali-Morin-Reaktion) zeigt. Unter extremen Bedingungen können aber auch aus Triphenylmethanderivaten Carbanionen gebildet werden.

Um das alkalische Reaktionsmilieu für pharmazeutisch gebräuchliche Farbreaktionen besser kennenzulernen, wurden in dieser Arbeit Untersuchungen der Reaktion aromatischer Aldehyde mit Aceton, der 2-Naphthylarylester und des Bisacodyls durchgeführt.
Aromatische Hydroxyaldehyde wie Vanillin und Salicylaldehyd kondensieren in einer CLAISEN-SCHMIDT-Reaktion mit Aceton und bilden in stark alkalischer Lösung intensiv gefärbte mesomeriestabilisierte Enolate.
2-Naphthylbenzoat wird in wäßrigem Aceton bei Zusatz von Lauge oxidativ gespalten; das Naphthylradikal wird hydroxyliert und reagiert weiter zu einem farbigen 1,2-Naphthalinsemichinon.
Bisacodyl wird bereits unter milden Bedingungen zum freien Phenol verseift, das zu einem Chinon oxidiert werden kann. Dieses bildet in alkalischer Lösung ein farbiges Phenolat.

In dem nachfolgenden Schema wird eine Übersicht der Reaktionen im alkalischen Milieu gegeben.

Reaktionen im alkalischen Milieu	
Ausgangsprodukt	Farbprodukt
1,8-Dihydroxy-anthrachinon	Mesomeriestabilisiertes Phenolation
Disalicylalaceton Divanillalaceton	o-Chinoides Enolat p-Chinoides Enolat
Oxyphenisatin + Kaliumhexacyanoferrat(III)	Triphenylmethan: 4-Hydroxyphenyl-2'amino-phenyl-chinomethan
Bisacodyl + Kaliumhexacyanoferrat(III)	Triarylmethan: 4-Hydroxyphenyl-pyridyl-chinomethan
Xanthydrol + metall. Kalium	Radikal: Metallketyl
2-Naphthylbenzoat	Radikal: 1,2-Naphthalinsemichinon
Atropin (Vitali-Morin-Reaktion)	Mesomeriestabilisiertes Carbanion
Triphenylmethan + Caesiumcyclohexylamid	Carbanion
Bisacodyl + Natriumhydrid	Carbanion
Ephedrin + Kupfer(II)-Ionen	Cuprat-Komplex

VI. Beschreibung der Versuche

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden mit der Schmelzpunktsapparatur nach Linström ermittelt und sind unkorrigiert angegeben.

Elektronenspektren

Die Messungen wurden mit dem Beckman-Spektralphotometer DB-GT in Quarzküvetten durchgeführt. Die Lösungsmittel sind bei den jeweiligen Versuchen angegeben.

Infrarotspektren

Die Aufnahmen erfolgten mit den Beckman-IR-Spektrometern AccuLab $^{T.M.}$2 und IR 20, A-X mit Hilfe von KBr-Preßlingen.

Massenspektren

Die Massenspektren wurden mit einem Varian-Gerät Typ CH-7 aufgenommen.

^{1}H-NMR-Spektren

Die Aufnahme der Kernresonanzspektren erfolgte in den Geräten Varian A-60 und Bruker WP-80. Als Referenzsignal diente TMS.

^{13}C-NMR-Spektren

Die Spektren wurden mit dem Gerät Bruker WP-80 aufgenommen. Als Referenzsignal diente DMSO-d_6.

ESR-Spektren

Die Messungen erfolgten mit einem Varian-Gerät Typ E 12.

Dünnschichtchromatographie

Die DC-Analysen wurden mit DC-Fertigplatten der Firma Merck, Darmstadt, ausgeführt. Plattenbeschichtung: Kieselgel F 254. Fließmittel und Detektion sind bei der jeweiligen Versuchsbeschreibung angegeben.

Elementaranalysen

Die Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium Ilse Beetz, Kronach/Ofr. durchgeführt.

Zu II. 1. Elektronenspektrum

Nach NIKITIN wurden 5 ml einer äthanolischen 0,12 M-Vanillinlösung (= 0,0852 g Vanillin) mit 5 ml einer äquimolaren wäßrigen Acetonlösung gemischt. Dazu gab man 5 ml einer 60 %igen Kalilauge. Nach halbstündigem Erwärmen auf dem Wasserbad wurde das Gemisch ("Stammlösung") zu 1000 ml verdünnt. 50 ml davon, die nochmals auf 100 ml aufgefüllt wurden, ergaben die Meßlösung, deren Gehalt an Vanillin 0,00213 g betrug.

Zu II. 1.1. Isolieren des Farbstoffs

Zuerst wurde versucht, den Farbstoff durch Ausschütteln mit organischen Lösungsmitteln zu isolieren. Obwohl Lösungsmittel verschiedener Polarität eingesetzt wurden, gelang die Isolierung nicht.

Ein Ansatz, bestehend aus fünffacher Menge Stammlösung nach NIKITIN, wurde eine Stunde lang auf dem Wasserbad erwärmt. Die rote Lösung blieb zwei Tage bei Raumtemperatur stehen, um einen möglichst quantitativen Reaktionsverlauf zu fördern. Dann wurde sie in mehrere Petrischalen ausgegossen. Nach einem Tag begann sich ein Kristallgemisch abzuscheiden, das teils aus feinen roten Nadeln, teils aus Aggregaten kleiner roter Kristalle und aus weißlichen Teilchen, vermutlich Vanillin, bestand. Die Lösung selbst war nur noch schwach gelblich gefärbt. Die Kristalle wurden abgenutscht und im Exsikkator getrocknet.

Die dünnschichtchromatographische Untersuchung des Rohprodukts ergab, daß noch sehr viel Vanillin enthalten war. Deshalb wurde das Produkt zuerst mit Chloroform gekocht, wodurch die Hauptmenge des Vanillins entfernt werden konnte.

Das Umkristallisieren war schwieriger, da sich die Substanz zwar in Wasser und Äthanol löst, aber schlecht wieder daraus auskristallisiert. Deshalb wurde das Rohprodukt zuerst mit Aceton unter Rückfluß erhitzt und dann soviel Äthanol zugegeben, bis sich der größte Teil gelöst hatte. Das rote Filtrat wurde bei Raumtemperatur stehen gelassen und dann vorsichtig am Rotationsverdampfer eingeengt. Allmählich begannen sich Kristalle abzuscheiden, die grünlich-schwarz gefärbt waren und sich mit dunkelroter Farbe in Wasser, Äthanol und Lauge lösten.

Die Elementaranalyse lieferte folgende Werte:

K $C_{19}H_{17}O_5 \cdot 6\ H_2O$ (472)	Ber.:	C 48,30	H 6,14	O 23,71
	Gef.:	C 48,35	H 4,69	O 23,25

Isolierung des gelben Farbstoffes durch Säulenchromatographie

Die Trennung wurde wie in Kapitel 1.1. beschrieben vorgenommen. Zuerst wurde eine Kieselgelsäule von 85 cm Länge und 2,5 cm Durchmesser eingesetzt. Als Füllmaterial diente Kieselgel für Säulenchromatographie 0,2-0,5 mm. Die gelb gefärbte Fraktion wurde gesammelt und weiter untersucht.

Die dünnschichtchromatographische Untersuchung der erhaltenen Fraktion ergab, daß alle Begleitstoffe abgetrennt waren. Nach dem Einengen der gelben Lösung erschien im DC wieder ein Fleck am Start, bei noch konzentrierterer Lösung trat zusätzlich Schwanzbildung auf. Daraus läßt sich schließen, daß sich der gelbe Farbstoff entweder leicht zersetzt, oder zur Polymerisation neigt.

Deshalb war eine möglichst rasche Trennung erforderlich. Statt der Säule von 85 cm Länge wurden drei kleinere von 50 cm gleichzeitig mit ca. 300 mg Rohprodukt beschickt. Die gelbe Lösung wurde in Fraktionen von etwa 250 ml gesammelt, die vorsichtig bei Raumtemperatur im Vakuum auf 100 ml eingeengt, dc untersucht und dann bis zur Weiterverwendung im Kühlschrank aufbewahrt wurden.

Da mit der Substanz aus diesen Fraktionen ein Massenspektrum aufgenommen werden sollte, war vor der Messung eine erneute Reinigung über eine Säule notwendig. Untersuchte man die vereinigten und stark eingeengten Lösungen nochmals mittels DC, so zeigte sich neben dem Hauptprodukt bereits wieder ein bräunlicher Fleck auf der Startlinie. Die zweite Reinigung

wurde über eine 10 cm hohe Kieselgelsäule vorgenommen, das Eluat auf ca. 5 ml rasch eingeengt und sofort zur Aufnahme eines Massenspektrums verwendet.

Zu II. Synthese der Vergleichssubstanzen und ihre physikalisch-chemischen Daten

Divanillalaceton[59)]

Ein Ansatz, bestehend aus 30 g Vanillin, 8 ml Aceton und 60 ml HCl konz. (D=1,18), wird nach sechstägigem Stehen mit 400 ml Wasser verdünnt. Der grüne Niederschlag wird in einer 2 %igen Natronlauge aufgelöst, mit verdünnter HCl ausgefällt, rasch mit Wasser gewaschen und aus verdünntem Äthanol umkristallisiert.

Ziegelrote Kristalle, schwerlöslich in Wasser, Benzol, Petroläther; leicht löslich in Alkohol, Aceton, Chloroform.

Schmp.: 115-117° C (115,5-119,5° C Lit.)

Elementaranalyse:

$C_{19}H_{18}O_5 \cdot H_2O$ (344)	Ber.:	C 66,28	H 5,81	O 27,90
	Gef.:	C 66,98	H 5,71	O 27,29

59) H. Nomura und S. Hotta, Chem.Zentralbl. 96 II, 1745 (1925)

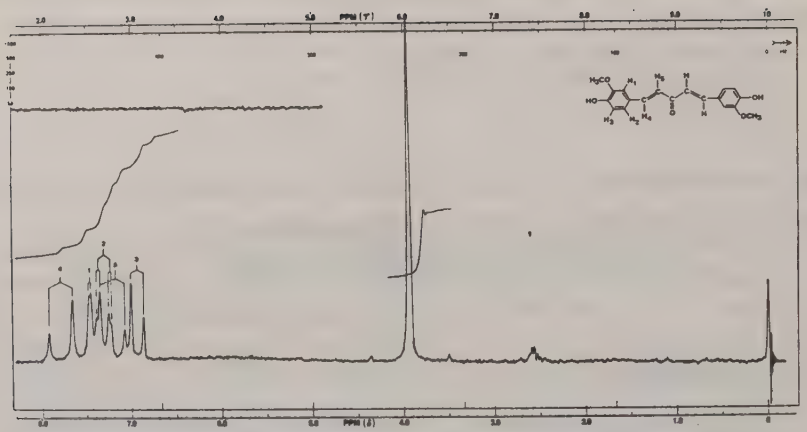


Abb. 32: ^{1}H-NMR-Spektrum des Divanillalacetons

Vanillalaceton[60)]

Man löst 12,5 g Vanillin in 50 ml Aceton, gibt 35 ml 10 %ige NaOH dazu und läßt das Gemisch 48 Std. lang stehen. Das überschüssige Aceton wird auf dem Wasserbad abdestilliert und die Lösung mit Wasser verdünnt. Beim Ansäuern mit Essigsäure fällt gelbes feinkristallines Vanillalaceton aus, das zweimal aus verdünntem Äthanol umkristallisiert wird.

Lange, hellgelbe Nadeln; schwerlöslich in H_2O, leicht löslich in organischen Lösungsmitteln.

Schmp.: 129° C (Lit.: 129-130° C).

Elementaranalyse:

$C_{11}H_{12}O_3$ (192)	Ber.:	C 68,75	H 6,25	O 25,00
	Gef.:	C 68,84	H 6,23	O 25,07

60) L. Francesconi und G. Cusmano, Gazz. Chim. Ital. 38 II, 75 (1908)

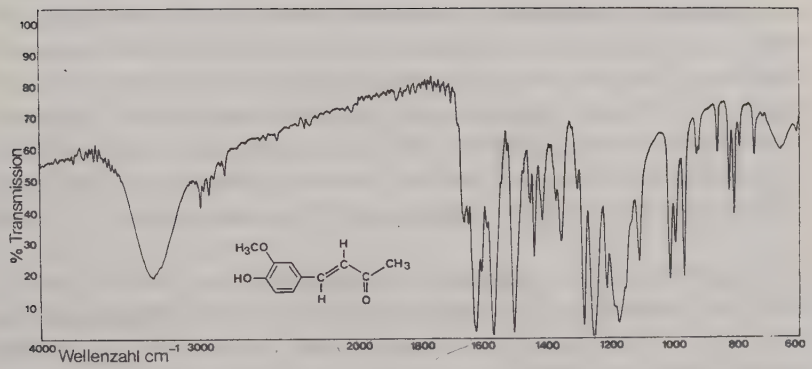


Abb. 33: IR-Spektrum des Vanillalacetons

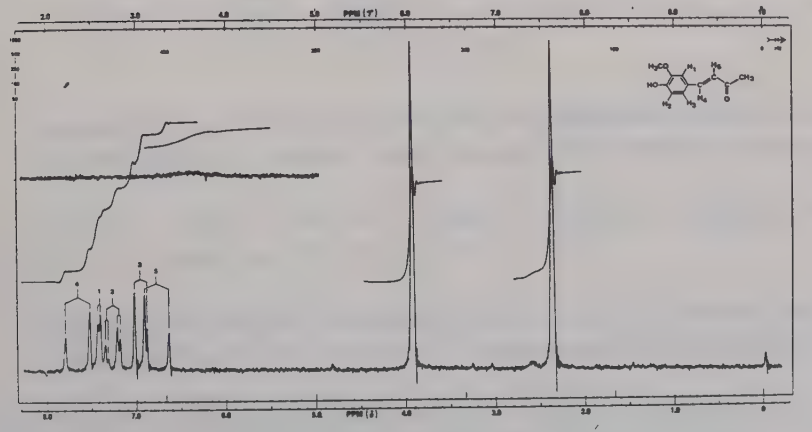


Abb. 34: ^{1}H-NMR-Spektrum des Vanillalacetons

Natriumsalz des Disalicylalacetons[61)]

Man mischt 25 g Salicylaldehyd mit 8 g Aceton und gibt unter Schütteln 10 ml 4 N-NaOH (= 16 %ig) hinzu. Nach 15minütigem sehr kräftigen Schütteln (Schüttelapparatur) beginnt die dunkelrote Mischung zu erstarren, und man erhält einen Kristallbrei, der aus grünen, glänzenden Schuppen besteht. Das abgesaugte Produkt wird zweimal aus 96 %igem Äthanol umkristallisiert. Feine grünlich schimmernde Nadeln, die sich mit dunkelroter Farbe in Wasser, Äthanol und Methanol lösen. Unlöslich in den anderen organischen Lösungsmitteln.

Die Elementaranalyse gestaltete sich schwierig, da die Substanz laut Fabinyi mit 7 Mol Kristallwasser kristallisiert, dessen Gehalt bereits bei kurzem Stehen an der Luft abzunehmen beginnt. Wird die Substanz vor der Bestimmung im Hochvakuum bei Raumtemperatur getrocknet, so ergibt sich aus der Berechnung ein Gehalt von 1 Mol Kristallwasser.

Die Elementaranalyse lieferte unter Berücksichtigung eines Mols Kristallwasser folgende Werte:

Na $C_{17}H_{13}O_3 \cdot H_2O$ (306)	Ber.:	C 66,68	H 4,89	O 20,90
	Gef.:	C 62,34	H 4,53	O 20,78

Eine zweite Bestimmung wurde unmittelbar nach zweimaligem Umkristallisieren vorgenommen und lieferte folgende Werte:

Na $C_{17}H_{13}O_3 \cdot 7\ H_2O$ (490)	Ber.:	C 49,29	H 6,52	O 38,63
	Gef.:	C 49,20	H 6,21	O 34,78

Dies spricht für die Annahme Fabinyis, daß das Natriumsalz des Disalicylalacetons mit 7 Mol Wasser kristallisiert.

---

61) R. Fabinyi, Patentbl. 21, 764; DRP 110521,19/4; 48 ref. in Chem. Zentralbl. 71 II, 302 (1900)

Disalicylalaceton

Die verdünnte, wäßrige Lösung des Natriumsalzes wird unter ständigem Umrühren tropfenweise mit Essigsäure versetzt. Die rote Farbe schlägt am Neutralpunkt in zitronengelb um, und das Disalicylalaceton fällt sehr feinverteilt aus. Nach einiger Zeit ist der Niederschlag ausgeflockt; die überstehende Lösung ist farblos. Zur Reinigung des Produktes wurde der Vorgang wiederholt, da es sich nicht so gut umkristallisieren ließ. Nach zweimaligem Ausfällen war die Substanz dc-rein.
Gelbes Pulver, schwerlöslich in Wasser, löslich in den meisten organischen Lösungsmitteln.

Schmp.: 159-161° C

Elementaranalyse:

$C_{17}H_{14}O_3$ (266)	Ber.:	C 76,69	H 5,26	O 18,04
	Gef.:	C 76,64	H 5,35	O 17,98

Zu III. 2. Synthese der Ausgangssubstanzen

2-Naphthylbenzoat und p-Toluylsäure-2-naphthylester wurden nach der Vorschrift von LEMAN[62] hergestellt.

2-Naphthylbenzoat

Auf 28,8 g 2-Naphthol (0,2 Mol), gelöst in 100 ml Benzol, läßt man in Gegenwart von 42 g wasserfreiem Kaliumcarbonat (0,3 Mol) 29 g Benzoylchlorid (0,2 Mol) einwirken, während man auf dem Wasserbad 150-180 min. erhitzt. Fällt aus dem Filtrat in der Kälte nichts aus, dampft man das Lösungsmittel ab. Man erhält schließlich 46,9 g des ß-Derivats. Das Rohprodukt ist nach zweimaligem Umkristallisieren analysenrein. Weißes, kristallines Pulver, schwerlöslich in Wasser, löslich in den üblichen organischen Lösungsmitteln.

Ausbeute: 39,5 g = 81,6 % d. Theor.
Schmp.: 108° C (Lit.) 106° C (gef.)

Elementaranalyse:

$C_{17}H_{12}O_2$ (248)	Ber.:	C 82,15	H 4,83	O 12,88
	Gef.:	C 82,14	H 4,96	O 12,96

p-Toluylsäure-2-naphthylester (TSE)

Als Ausgangsprodukt wurde p-Toluylsäuremethylester eingesetzt. Dieser wurde zunächst verseift und die p-Toluylsäure mit Thionylchlorid ins Säurechlorid überführt. Nach obiger Vorschrift wurde dann verestert.

p-Toluylsäure

In Anlehnung an die Vorschrift aus dem ORGANIKUM[63] wurde der Ester alkalisch verseift.

---

62) A. Leman, Ann.Chim. (Paris), 9, 407 (1938)
63) Organikum, 9. Auflage, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin 1969, S. 457

15 g p-Toluylsäuremethylester (0,1 Mol) werden in 50 ml Äthanol gelöst. Nach Zugabe von 5,6 g KOH (0,1 Mol) in Form von 50 %iger Lauge wird zwei Stunden unter Rückfluß erhitzt. Der Alkohol wird abgezogen und der weiße Rückstand mit Wasser in Lösung gebracht. Der nicht verseifte Ester wird durch zweimaliges Ausäthern entfernt. Unter Eiskühlung und Rühren wird tropfenweise mit halbkonzentrierter Salzsäure versetzt. Das ausgefallene weiße Produkt wird aus Äthanol umkristallisiert. Weiße, glänzende Nadeln.

Ausbeute: 6,7 g = 49,3 % d. Theor. (nach d. Umkristallis.)
Schmp.: 176° C (Lit.) 176° C (gef.)

Elementaranalyse:

$C_8H_8O_2$ (136)	Ber.:	C 70,58	H 5,88	O 23,52
	Gef.:	C 70,66	H 5,83	O 23,52

p-Toluylchlorid[64)]

6,0 g p-Toluylsäure wird mit 10,0 g frisch destilliertem Thionylchlorid unter Rückfluß erhitzt, bis keine Gasentwicklung mehr auftritt. Das überschüssige Thionylchlorid wird abdestilliert, am Schluß unter Wasserstrahlvakuum. Eine Reinigung wurde nicht vorgenommen, da das Säurechlorid gleich weiterverarbeitet wurde.
Ausbeute: 8,15 g (Rohprodukt)

p-Toluylsäure-2-naphthylester (TSE)

Nach der Vorschrift von LEMAN wurden folgende Mengen eingesetzt:

7,62 g 2-Naphthol, gelöst in 40 ml Benzol
11,11 g Kaliumcarbonat
8,15 g p-Toluylsäurechlorid
Weiße, blättchenartige Kristalle
Ausbeute: 6,5 g = 46,9 % (nach d. Umkristallis.)
Schmp.: 134-136° C

Elementaranalyse:

$C_{18}H_{14}O_2$ (262)	Ber.:	C 82,44	H 5,34	O 12,21
	Gef.:	C 82,37	H 5,38	O 12,29

64) Organikum, 9. Auflage, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin 1969, S. 469

Zu III. 2. Physikalisch-chemische Daten der Ausgangssubstanzen

Elektronenspektren

Die Spektren beider Ester wurden in Petroläther 50 - 70° C/ p.a. aufgenommen. Sie sind in Abb. 35 zusammengefaßt. Die Kurve des 2-Naphthylbenzoats weist ein Maximum bei 218 nm auf. Dagegen zeigt die Kurve des TSE ein kleines Maximum bei 236 nm und das Hauptmaximum bei 220 nm. Beiden gemeinsam ist der Kurvenverlauf im Bereich von 250-300 nm, welcher dem des Naphthalins ähnelt.

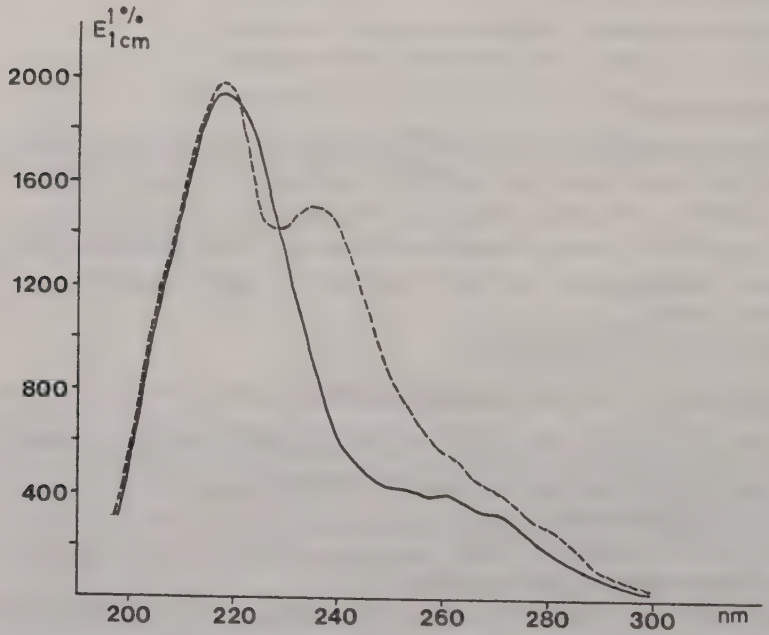


Abb. 35: Elektronenspektren von 2-Naphthylbenzoat und TSE

——— = 2-Naphthylbenzoat

----- = TSE

IR-Spektren

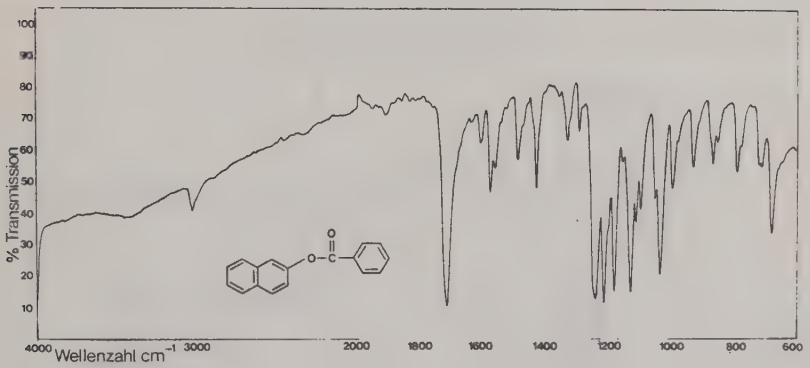


Abb. 36: IR-Spektrum des 2-Naphthylbenzoats

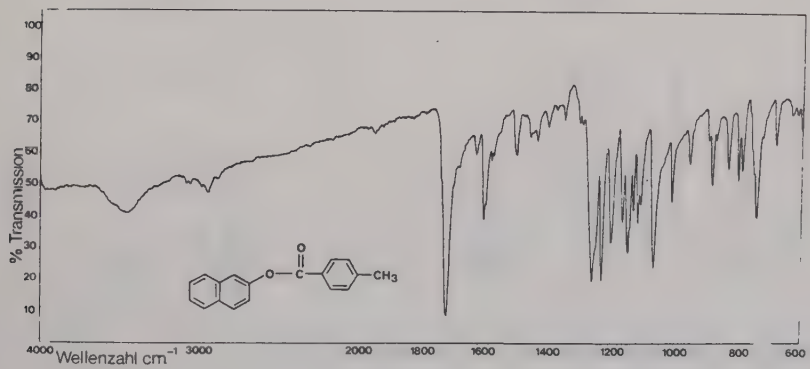


Abb. 37: IR-Spektrum des TSE

Massenspektren

Die Spektren beider Substanzen weisen nur wenige Fragmentierungen auf. Zuerst erfolgt Spaltung der Esterbindung, danach Eliminierung von CO sowohl aus dem Naphtholbruchstück als auch aus dem Säurerest.

Aufnahmebedingungen:

Probentemperatur: 55-60° C
Ionenquelle: 250° C/70 eV, Direkteinlaß

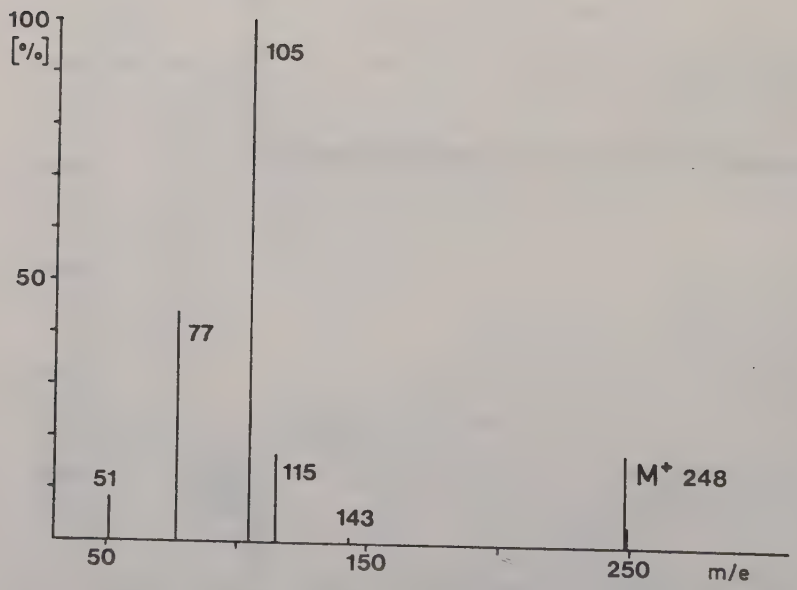
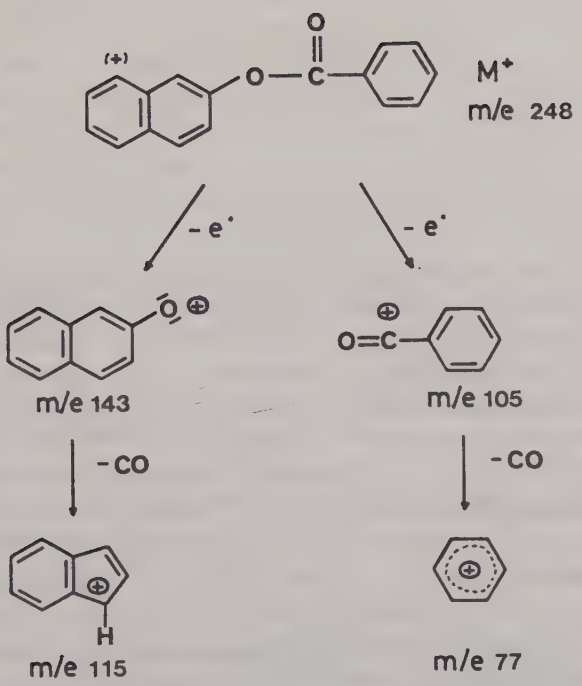


Abb. 38: Massenspektrum von 2-Naphthylbenzoat

Zerfallsschema



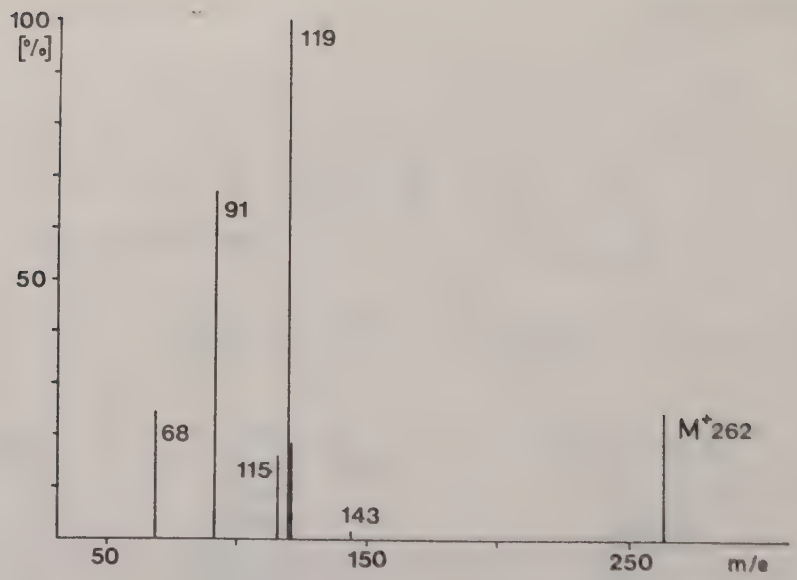
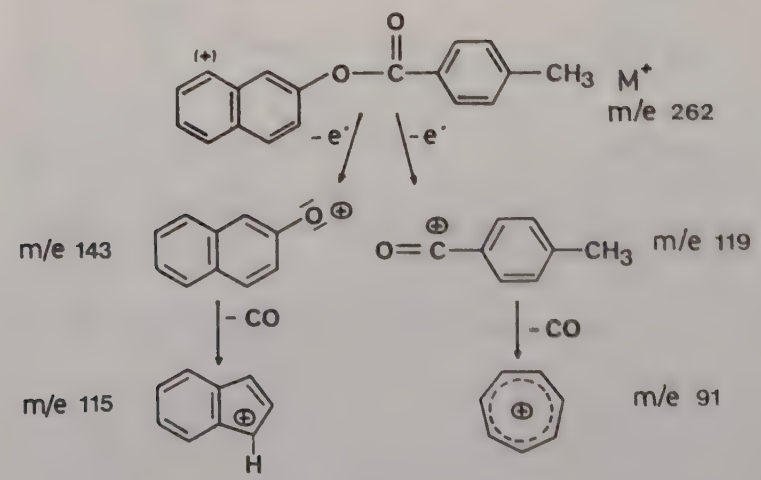


Abb. 39: Massenspektrum von TSE

Zerfallsschema:



Zu III. 3. Isolieren der Folgeprodukte

Da bei der Chromatographie mit einer Glassäule keine gute Trennung erreicht werden konnte, wurde eine Nylonsäule gewählt. Als Füllmaterial diente Silicagel Woelm zur Trockensäulenchromatographie, Aktivität III/30 mm nach Brockmann. Die Nylonsäule wurde selbst gefüllt. Das eine Ende wurde zugeschweißt. In die Säule kam zuerst ein Wattebausch, dann wurde sie frei aufgehängt und gefüllt, wobei nur durch ständiges Rütteln eine dichte Packung erreicht wurde.

Der Ansatz für die Farblösung betrug 2,0 g 2-Naphthylbenzoat in 100 ml 80 %igem Aceton unter Zusatz von 5 ml 1 N-KOH. Das Reaktionsgemisch wurde eine Stunde lang bei 40° C im Wasserbad erwärmt und über Nacht stehengelassen. Die Aufarbeitung erfolgte wie in Kapitel 3. beschrieben. Der eingeengte Chloroformextrakt wurde mit etwas Silicagel aufgenommen, um den Farbstoff zu adsorbieren, und die Masse dann auf die Säule aufgebracht. Die Säule wurde noch mit einer Schicht Glaskugeln beschwert, um ein Aufwirbeln zu vermeiden, und unten mit einigen Löchern versehen, um das Eluat abfließen zu lassen.

Zuerst wurde mit ca. 500 ml Benzol eluiert. Man erhielt vier gelb gefärbte Fraktionen von etwa je 100 ml, welche nicht umgesetzte Ausgangssubstanz und 2-Naphthol enthielten. Beide Stoffe wurden dünnschichtchromatographisch nachgewiesen.

Dann wurde die Polarität des Fließmittels durch Zusatz von Essigester (10 %) erhöht. Mit insgesamt 250 ml wurde eluiert. Die nächste Fraktion enthielt eine Substanz mit dem gleichen R_f-Wert wie Substanz (c). Die Lösung wurde sehr vorsichtig eingeengt und sofort zur Aufnahme von Massenspektren verwendet.

Nach Identifizierung von Substanz (c) als Benzoesäure wurde die gleiche Fraktion mit $NaHCO_3$-Lösung behandelt, um die Benzoesäure zu entfernen, und anschließend ausgeäthert. Die Ätherphase zeigte dann im DC bereits eine Zersetzung der zweiten Substanz in mehrere Produkte, was eine eindeutige Identifizierung der zweiten Substanz ausschloß.

Zu IV. 1. Elektronenspektrum

Ein Meßkolben von 10 ml wurde zur Hälfte mit Acetonitril gefüllt, das durch mehrfache Destillation über P_2O_5 getrocknet und gereinigt worden war. Dazu gab man 200 mg Natriumhydrid in Form eines 50 %igen paraffinhaltigen Granulates. Diese Mischung wurde mit 100 mg Bisacodyl versetzt und mit Acetonitril auf 10 ml aufgefüllt. Sie wurde vorsichtig im Ölbad bei etwa 70° C erwärmt, und nach ungefähr 10 min hatte die Färbung ihre größte Intensität erreicht. Da die Farblösung nicht vom überschüssigen Natriumhydrid abfiltriert werden konnte (Zersetzung durch das Filterpapier), wurde 15 min lang zentrifugiert. Die überstehende klare blaue Lösung wurde sofort gegen Acetonitril als Vergleich gemessen.

Darstellung des Bis(4-hydroxyphenyl)-pyridylmethans

5,0 g Bisacodyl wurden mit 50 ml Äthanol versetzt und unter Rückfluß erhitzt. Zu dem Gemisch wurden in Anteilen 50 ml 1-N KOH gegeben und weiter erhitzt, bis sich die gesamte Ausgangsubstanz gelöst hatte. Dabei färbte sich die Lösung violett. Nach Abkühlen wurde der Äthanol am Rotationsverdampfer abgezogen, wobei sich die Lösung wieder entfärbte. Die wäßrige alkalische Phase wurde unter Kühlung tropfenweise mit halbkonzentrierter Salzsäure neutralisiert, wobei das Diphenol in weißen Flocken ausfiel. Das Produkt wurde mit Wasser gewaschen und getrocknet.
Ausbeute: 3,7 g = 96,6 % d. Th.

$C_{18}H_{15}NO_2$ (277)	Ber.:	C 77,97	H 5,41	N 5,05	O 11,55
	Gef.:	C 77,82	H 5,38	N 5,20	O 11,63

Zu IV. 2. Synthese des Dimethyläthers des Bis(4-hydroxyphenyl)-pyridylmethans

Eine Möglichkeit der Darstellung ist die Umsetzung des entacetylierten Produktes mit Dimethylsulfat. Hierbei entsteht jedoch immer ein Pyridiniumsalz als Nebenprodukt. Nach O.E. SCHULTZ[65] wurde deshalb der Dimethyläther durch Kondensation von Anisol und Pyridin-2-aldehyd unter Katalyse von konzentrierter Schwefelsäure hergestellt.

In einen mit Eis gekühlten Kolben, der mit einem mechanischen Rührer versehen war, wurde 21,4 g Pyridin-2-aldehyd, 43,2 g Anisol und 60 ml Eisessig eingefüllt. Tropfenweise, so daß die Temperatur nicht über 10° C stieg, kamen 100 ml konz. Schwefelsäure hinzu. Das Gemisch wurde sodann unter Rühren 5 Stunden auf dem Wasserbad bei 70° C erwärmt und nach dem Erkalten langsam mit 400 ml Wasser verdünnt. Nach dem Neutralisieren mit 5 %iger Natronlauge schied sich ein helles Öl ab, das mit Äther aufgenommen wurde. Die ätherische Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet. Der Äther und das nicht umgesetzte Anisol wurden im Vakuum abdestilliert.

Laut Literatur sollte das Produkt durch mehrfache Destillation im Hochvakuum zu reinigen sein. Als Bedingungen gibt SCHULTZ einen Siedepunkt von 205 - 208° C bei 0,1 mm Hg an. Da eine Destillation trotz mehrfacher Versuche nicht gelang, wurde das Rohprodukt durch Säulenchromatographie aufgetrennt.

---

65) O.-E. Schultz und L. Geller, Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.) 288, 242 (1955)

Chromatographische Untersuchung des Rohproduktes

Zuerst wurde das Rohprodukt dc untersucht. Eine gute Trennung erzielte man mit einem Gemisch aus Chloroform/ Aceton 9 + 1 als Fließmittel.

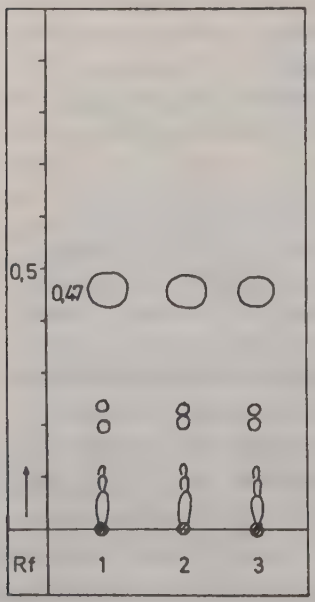


Abb. 40: Schematisches DC des Rohproduktes

Adsorbens: Kieselgel F 254
Fließmittel: Chloroform/Aceton 9 + 1

1 - 3 = Rohprodukt

Eine Versuchstrennung wurde mit einer Säule von 50 cm Länge und 2,5 cm Durchmesser vorgenommen. Als Träger diente Kieselgel zur Säulenchromatographie, das mit destilliertem Chloroform aufgeschlämmt und eingefüllt wurde. Etwas Rohprodukt, in $CHCl_3$ gelöst, wurde auf die Säule aufgebracht. Mit einem Gemisch aus $CHCl_3$/Aceton 9 + 1 wurde dann eluiert. Die erste, gelb gefärbte Phase konnte verworfen werden, da sie laut DC keinerlei Substanz aufwies. Die nachfolgende bräunliche Phase

wurde in Fraktionen gesammelt und dc untersucht. Sie enthielt nur eine Substanz mit dem Rf-Wert 0,47. Ein Massenspektrum, das sofort aufgenommen wurde, zeigte, daß diese Substanz der gesuchte Dimethyläther war. Über eine Kieselgelsäule von 80 cm Länge und 5 cm Durchmesser konnte auf die oben beschriebene Weise 5 g Rohprodukt aufgetrennt werden. Man erhielt etwa 2 g Reinsubstanz, mit der die weiteren Untersuchungen vorgenommen wurden.

Elementaranalyse:

$C_{20}H_{19}N\,O_2$ (305)	Ber.:	C 78,68	H 6,23	N 4,59	O 10,49
	Gef.:	C 78,62	H 6,15	N 4,58	O 10,58

Massenspektrum des Dimethyläthers

Das Spektrum weist wenige ausgeprägte Peaks auf, was für aromatische Verbindungen charakteristisch ist. Als Massenpeak M + wurde der Peak bei m/e 305 ermittelt.

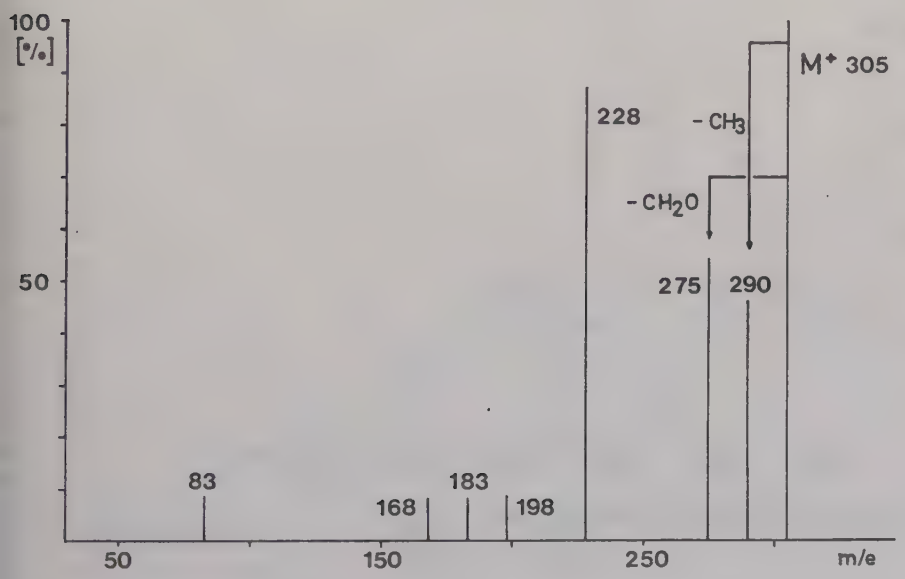


Abb. 41: Massenspektrum des Dimethyläthers

Physikalisch-chemische Daten der beiden Vergleichssubstanzen

Es wurden jeweils UV- und IR-Spektren aufgenommen und miteinander verglichen. Die Auswertung ist tabellarisch zusammengefaßt.

UV-Spektren

Substanz	λ max. I	λ max. II
Bisacodyl / CH_3OH p.a.	225	263
Bis 1 / CH_3OH p.a.	238	283
Bis 2 / $CHCl_3$ p.a.	242	265

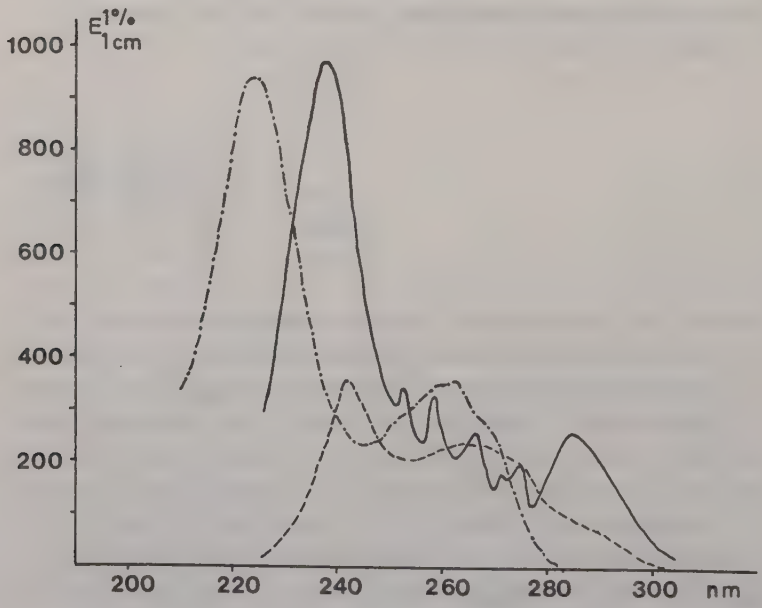


Abb. 42: UV-Spektren von Bisacodyl -·-·-·-
Bis 1 ——————
Bis 2 - - - - -

IR-Spektren

Bisacodyl	1760 cm^{-1}	Estercarbonylbande
	1590 cm^{-1}	CN-Schwingung, fällt mit Aromatenbande zusammen
	1500 cm^{-1}	Aromatenbande
	1370 cm^{-1}	$-O-CO-CH_3$-Schwingung
Bis 1	3300 cm^{-1}	Phenolische OH, Brückenbildung
	1610 cm^{-1}	C-N-Schwingung
	1590 cm^{-1}	Aromatenbanden
	1500 cm^{-1}	
Bis 2	3000 cm^{-1}	CH-Valenzschwingung
	2870 cm^{-1}	Methyläther-Gruppierung
	1600 cm^{-1}	Aromatenbanden
	1500 cm^{-1}	
	1590 cm^{-1}	C-N-Schwingung

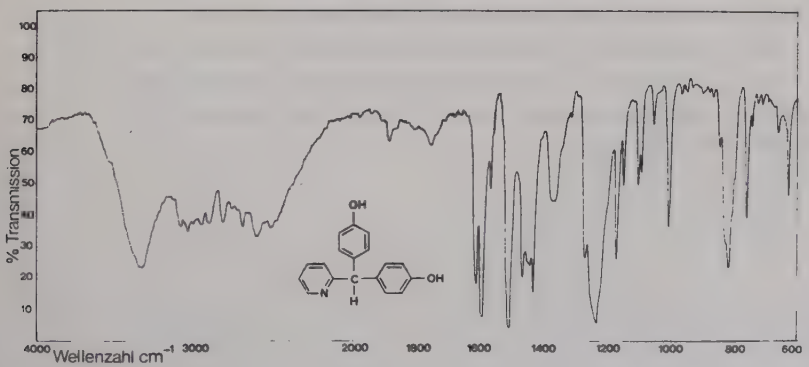


Abb. 43: IR-Spektrum von Bis 1

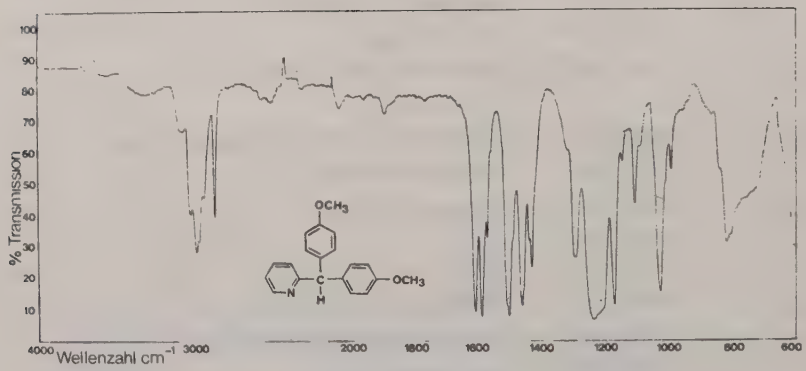


Abb. 44: IR-Spektrum von Bis 2

Zu IV. 3. Elektronenspektren

Bei der Herstellung der Farblösung mußte darauf geachtet werden, daß der Anteil der zugesetzten Lauge nicht zu hoch war, da sonst die Farblösung ausbleichte.
Ein gutes Meßergebnis lieferte eine Lösung, die auf 50 ml 1 ml 1-N KOH enthielt. Das entspricht einem pH-Wert von 12. Vom Kaliumhexacyanoferrat-III wurden 20 mg auf 50 ml Meßlösung eingesetzt.

Einteilung der Identitätsreaktionen in der Ph. Eur.
Band I - III

Gesamtzahl: 746
davon sind:

1. Farbreaktionen:	219	~	30 %
2. Klass.-chem. RK.:	215	~	29 %
3. Phys.-chem. RK.:	164	~	22 %
4. Prüfungen mit Großgeräten	78	~	11 %
IR:	17		
UV:	48		
Spez.Drehung:	13		
5. DC, PC	70	~	9 %

Lebenslauf

Name:	Brigitte Marschall
Geburtstag:	21.05.1948
Geburtsort:	Mettenberg, Krs. Waldshut
Eltern:	Anton Marschall und Gertraudis Marschall, geb. Dudek
Beruf des Vaters:	Rektor

Schulischer Werdegang

Grundschule:	Volksschule Ramsbach, Ortenaukreis Ostern 55 bis Ostern 59
Gymnasium:	Progymnasium Oberkirch Ostern 59 bis Dezember 63 Gymnasium Achern 6.12.63 bis zur Reifeprüfung
Reifeprüfung:	23.06.67 am Gymnasium Achern

Beruflicher Werdegang

Apothekenpraktikum:	Stadt-Apotheke in Bühl/Baden 01.09.67 bis 31.08.69
Pharmaz. Vorprüfung:	19.09.69 in Freiburg
Studium der Pharmazie:	Universität Karlsruhe Oktober 69 bis April 73
Pharmaz. Prüfung:	13.04.73 in Karlsruhe
Wissenschaftl. Arbeit am Pharm.-chem.Institut der Universitäten Karlsruhe u. Heidelberg:	01.06.73 bis 31.12.74
Beginn der vorliegenden Arbeit:	April 75 unter der Leitung von Herrn Professor Dr. H. Auterhoff am Pharmazeutischen Institut der Universität Tübingen
Abschluß der Arbeit:	Februar 1978
Wiss. Hilfskraft:	01.06.75 bis 31.3.76
Wiss. Angestellte:	Seit 01.04.76

Meine akademischen Lehrer waren:

Herr Professor Dr. H. Auterhoff und die Herren Professoren: E. Graf, K.-A. Kovar, R. Neidlein, G. Schwenker, H. Stamm, H. Vogt (Pharmazie); G. Fritz, G. Maier (Chemie); H. Kühlwein (Botanik; W. Buckel, F. Stöckmann (Physik); H. Becker, H. Lichtenthaler (Pharmakognosie); W. Schmidt-Lorenz (Hygiene); U. Wollert (Pharmakologie).

ifo druck
laubanger 15
8600 bamberg
tel.: 0951/6 43 21